



Titulació:

Grado en Ingeniería en Tecnologías Industriales (GRETÍ)

Alumno (nombre y apellido):

Mónica Ortega Llorens

Título Final de Grado:

ESTUDI PER LA MODIFICACIÓ FUNCIONAL
DE BIOFILMS DE NANOCEL·LULOSA
MITJANÇANT OZÓ

Directora del TFG:

Cristina Valls Vidal

Codirectora del TFG:

M. Blanca Roncero Vivero

Convocatoria de entrega del TFG:

15/01/2020; Ordinaria; Cuatrimestre de otoño 2019 - 2020

Contenido:

MEMORIA y ANEXOS

Resumen

El siguiente estudio tiene como principal objetivo oxidar la nanocelulosa fibrilar (NFC) mediante ozono con el fin de obtener un biofilm con propiedades funcionales avanzadas. En primer lugar, se aplica varias veces el tratamiento de blanqueo con ozono a la NFC, evaluando la mejor manera de oxidar la muestra. En segundo lugar, se evalúan distintas propiedades, tanto de las muestras en suspensión como en los films obtenidos. Todos los resultados se comparan con NFC tratada con ozono y sin tratar. Se caracterizan las propiedades físico-mecánicas, químicas, barrera y ópticas. La formación de grupos funcionales se evalúa mediante la viscosidad, el envejecimiento y los grupos aldehído y carboxilo. Se demuestra que el ozono ha oxidado la NFC creando grupos carbonilo que producen un aumento en el envejecimiento de los films obtenidos. Estos grupos creados facilitan la funcionalización de la NFC oxidada con plata, lo que resultaría muy interesante para la obtención de films con propiedades antimicrobianas o conductimétricas.

Abstract

The main objective of the following study is to oxidize fibrillar nanocellulose (NFC) through ozone in order to obtain biofilm with advanced functional properties. First, ozone bleaching treatment is applied several times to the NFC, evaluating the best way to oxidize the sample. Secondly, different properties are evaluated, both in the samples in suspension and in the films obtained, and the results are compared with both untreated and ozone treated NFCs. Also, physical-mechanical, chemical, barrier and optical properties are characterized. The formation of functional groups is evaluated by means of viscosity, ageing and aldehyde and carboxyl groups. It is demonstrated that ozone has oxidized NFC creating carbonyl groups that produce an increase in the aging of the films obtained. These created groups facilitate the functionalization of the NFC oxidized with silver, which would be very interesting to obtain films with antimicrobial or conductimetric properties.

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a Cristina Valls, que me dio la oportunidad de hacer el trabajo de final de grado en el laboratorio CELBIOTECH. También por enseñarme el campo de la ingeniería papelera, completamente nuevo para mí, y por ayudarme y explicarme todo aquello que estaba fuera de mi comprensión.

También quiero agradecer a todo el grupo de CELBIOTECH que me han ayudado mucho durante todo el proyecto, resolviendo y explicándome cualquier duda que tuviera sobre la experimentación en el laboratorio, dándome consejos esenciales para la realización del trabajo y estando como apoyo moral todos los días.

En segundo lugar, quiero dar las gracias a mis dos compañeras de carrera, Nerea Fernández y Jenifer Ramírez, además de mis amigos por animarme y ayudarme a seguir adelante durante todo el grado, y sobre todo durante el proceso de realización de TFG. También quiero dar un especial agradecimiento a mis padres y mis dos hermanos por apoyarme y ser comprensivos incondicionalmente en cada momento, tanto académicamente como personalmente.

Finalmente, quiero agradecer a mi pareja, Ajax González, por apoyarme, cuidarme y soportarme durante todo mi trayecto académico en la ESEIAAT.

Declaración de honor

I declare that,

the work in this Degree Thesis is completely my own work,

no part of this Master Thesis / Degree Thesis (*choose one*) is taken from
other people's work without giving them credit,

all references have been clearly cited,

I'm authorised to make use of the research group related information I'm
providing in this document.

I understand that an infringement of this declaration leaves me subject to
the foreseen disciplinary actions by *The Universitat Politècnica de
Catalunya - BarcelonaTECH*.

Monica Ortega Llorens

Student Name

Signature

15/01/2020

Date

Title of the Thesis: Estudi per la modificació funcional de biofilms de
nanocel·lulosa mitjançant ozó

Glosario

AgNO_3	Nitrato de plata
BNC	Nanocelulosa bacteriana
CED	Cuprietilendiamina
$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$	Celulosa
COOH	Grupo
C=O	Grupo
HCl	Ácido clorhídrico
H_2O	Agua destilada
N_2	Nitrógeno
NaBH_4	Borohidruro de sodio
NaBr	Bromuro de sodio
NaClO	Hipoclorito de sodio
NaClO_2	Clorito de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NCC	Nanocelulosa cristalina
NFC	Nanocelulosa fibrilar
NMC	Nanomaterial de celulosa
O_2	Oxígeno
O_3	Ozono
TEMPO	2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl radical

Índice

Resumen.....	i
Abstract	i
Agradecimientos	ii
Declaración de honor	iii
Glosario	iv
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas	x
Lista de gràfics.....	xii
Lista de esquemas	xiii
1. Introducció	1
2. Objetivo.....	1
3. Alcance	1
4. Requerimientos	1
5. Justificación	2
6. Celulosa	3
<i>6.1. Celulosa y sus derivados</i>	<i>4</i>
7. Nanocelulosa.....	5
<i>7.1. Introducció a la nanocelulosa</i>	<i>5</i>
<i>7.2. Mètodes de obtenció de nanocelulosa.....</i>	<i>6</i>
<i>7.3. Oxidació de la cel·lulosa</i>	<i>7</i>
7.3.1. Oxidació con ozono	9
7.3.2. Problemàtica	9
8. Metodología experimental	10
<i>8.1. Materiales y equipos</i>	<i>10</i>
8.1.1. Equipo utilizado	11
8.1.2. Material utilizado.....	16
<i>8.2. Ensayos</i>	<i>2</i>
8.2.1. Tratamiento con ozono	4

8.2.2. Muestras en suspensión	5
8.2.2.1. Viscosidad intrínseca	6
8.2.2.2. Transparencia.....	7
8.2.2.3. Rendimiento.....	7
8.2.2.4. KAJAANI.....	8
8.2.2.5. Microscopio.....	9
8.2.3. Films.....	9
8.2.3.1. Espesor y gramaje.....	10
8.2.3.2. Sequedad	10
8.2.3.3. Tracción	10
8.2.3.4. Aldehídos.....	11
8.2.3.5. Carboxilos.....	11
8.2.3.6. Permeancia al aire.....	12
8.2.3.7. Permeancia al O ₂	12
8.2.3.8. Water Drop Test	13
8.2.3.9. Resistencia en húmedo	13
8.2.3.10. Absorbancia.....	14
8.2.3.11. Transparencia.....	14
8.2.3.12. Blancura	14
8.2.3.13. Densidad óptica	15
8.2.3.14. Envejecimiento	15
8.2.3.15. Viscosidad intrínseca sin/con NaBH ₄	16
8.2.3.16. Funcionalización con Ag.....	17
9. Resultados.....	19
9.1. Tratamiento de ozono.....	20
9.2. Efecto del ozono en el rendimiento en NFC y en la longitud de las fibras	21
9.3. Propiedades físico-mecánicas	22
9.4. Propiedades ópticas	23
9.5. Propiedades barrera	26
9.6. Estudio del efecto del ozono en la creación de grupos funcionales.....	28
9.6.1. Aldehídos y carboxilos	29
9.6.2. Viscosidad intrínseca	29
9.6.3. Envejecimiento	30

9.7. Funcionalización con Ag.....	32
10. Presupuesto	34
11. Implicaciones ambientales.....	34
11.1. Emisiones de gases.....	35
11.2. Residuos.....	35
12. Conclusiones.....	36
13. Recomendaciones	37
14. Bibliografía	38
Anexo A: Listado de muestras realizadas durante el estudio.....	42
Anexo B: Cálculos de viscosidad intrínseca con NaBH₄.....	43
Anexo C: Cálculo de concentraciones de NFC.....	44
Anexo D: Resultados del tratamiento con ozono	45
Anexo E: Resultados de la viscosidad intrínseca	49
Anexo F: Resultados del ensayo de transparencia.....	51
Anexo G: Resultados del microscopio.....	51
Anexo H: Resultados de espesor y gramaje.....	52
Anexo I: Resultados del ensayo de aldehídos.....	53
Anexo J: Resultados del ensayo de carboxilos	54
Anexo K: Resultados del ensayo de la permeabilidad al aire	56
Anexo L: Resultados del ensayo de la permeabilidad al O₂.....	57
Anexo M: Resultados del ensayo Water Drop Test.....	59
Anexo N: Resultados del ensayo de blancura.....	59
Anexo O: Resultados del ensayo de densidad óptica	60

Lista de figuras

Figura 1. Esquema de las fibras de celulosa en la pared celular de una planta	3
Figura 2. Estructura de la celbiosa, unidad más pequeña de la celulosa.	3
Figura 3. Ejemplo de estructura de celulosa polimorfa y alomorfa.	4
Figura 4. Esquema de la estructura jerárquica de la celulosa y sus tipos de nanomateriales	5
Figura 5. Esquema de proceso de hidrólisis ácida de la nanocelulosa.....	7
Figura 6. Ejemplos de las estructuras moleculares de los grupos cetona, aldehído y carboxilo	8
Figura 7. Espectrofotómetro UV, VARIAN CARY 100.....	11
Figura 8. Espectrofotómetro abreviado de reflectancia Technidyne Color Touch PC ...	11
Figura 9. Cámara climática INELEC	12
Figura 10. Micrómetro digital.....	12
Figura 11. Formador de hojas de ensayo de laboratorio	13
Figura 12. Medidor de longitud de fibras	13
Figura 13. Planta de tratamiento con ozono.....	14
Figura 14. Microscopio óptico	14
Figura 15. Viscosímetro automático.....	14
Figura 16. Máquina universal de ensayos.....	15
Figura 17. Centrifugadora	15
Figura 18. Sistema de pruebas Water Vapor Transmission Rate	16
Figura 19. Muestras de NFC preparadas para aplicar el tratamiento de ozono.....	4
Figura 20. NFC aplicándose el tratamiento de ozono.....	4
Figura 21. Muestras oxidadas después de aplicar el tratamiento de ozono	5
Figura 22. Muestras oxidadas y centrifugadas preparadas para lavar	5
Figura 23. Muestras oxidadas mezclándose con CED para realizar el ensayo de viscosidad.....	6
Figura 24. Ensayo de la viscosidad intrínseca mediante el viscosímetro automática	6
Figura 25. Decantación de la NFC centrifugada.....	8
Figura 26. Muestra centrifugada para medir el rendimiento	8
Figura 27. NFC prepara para centrifugar	8
Figura 28. Mezclador KAJAANI	8
Figura 29. NFC preparadas para hacer el ensayo KAJAANI.....	8
Figura 30. Muestra de NFC completamente seca dentro del molde.....	10
Figura 31. NFC mezclada con H ₂ O en el molde para hacer films.....	10

Figura 32. Films preparats per a l'ensayo de WDT	13
Figura 33. Ensayo de Water Drop Test.....	13
Figura 34. Resultado del ensayo de resistencia en húmedo.	14
Figura 35. Films preparats per a posar a la càmera climàtica	16
Figura 36. Mostres de films amb NaBH ₄	17
Figura 37. Filtració dels films amb NaBH ₄	17
Figura 38. Film submergit en AgNO ₃	18
Figura 39. Film tractat amb AgNO ₃ una vegada secat	18
Figura 40. Films envejecidos	24
Figura 41. Resultats de l'ensayo de resistencia en húmedo	28
Figura 42. Films control i B4 abans i després d'envejecer.....	31
Figura 43. Films control i B4 envejecidos.....	31
Figura 44. Films funcionalitzats amb plata després de sellar.....	32
Figura 45. Films funcionalitzats amb plata completament secs	32
Figura 46. Imatges capturades amb el microscopi de B4 (escala 100 µM).....	51
Figura 47. Imatges capturades amb el microscopi de control (escala 100 µM).....	52

Lista de tablas

Tabla 1. Lista de materiales y herramientas específicas para los ensayos	2
Tabla 2. Dosis aplicadas de ozono en la nanocelulosa fibrilar	4
Tabla 3. Resultados de blanqueo de la NFC.....	20
Tabla 4. Resultados de las propiedades físico-mecánicas de las muestras (Control, B2, B4 y B6).....	23
Tabla 5. Resultados del ensayo de blancura con fondo blanco y negro de las muestras Control, B2, B4 y B6	24
Tabla 6. Resultados del ensayo de transparencia de las muestras control, B2, B4 y B6	25
Tabla 7. Resultados del ensayo de permeabilidad al aire (BEKK) con las muestras control y B4.....	26
Tabla 8. Resultados del ensayo de permeabilidad al oxígeno con las muestras control y B4	27
Tabla 9. Resultados del ensayo de resistencia en húmedo de las muestras control y B4	28
Tabla 10. Resultados del ensayo de aldehídos y carboxilos de las muestras control y B4	29
Tabla 11. Resultados del ensayo de viscosidad intrínseca con/sin NaBH ₄ de las muestras control B2,	29
Tabla 12. Resultados del ensayo de blancura sobre fondo blanco de las muestras control y B4 envejecidas.....	31
Tabla 13. Resultados del leaching de las muestras control y B4.....	32
Tabla 14. Resultados de la conductividad de las muestras control y B4 funcionalizadas con plata.....	33
Tabla 15. Listado de muestras realizadas durante el estudio.....	43
Tabla 16. Resultados de gramos de NaBH ₄ añadidos a las muestras.....	43
Tabla 17. Resultados de blanqueo de B2	45
Tabla 18. Resultados de blanqueo de B6	46
Tabla 19. Resultados de blanqueo de B4 2/10.....	47
Tabla 20. Resultados de blanqueo de B4 22/10.....	48
Tabla 21. Características de la viscosidad intrínseca de la tabla 23.....	49
Tabla 22. Resultados de viscosidad intrínseca de las muestras en suspensión.....	50
Tabla 23. Características de la viscosidad intrínseca de la tabla 25.....	50
Tabla 24. Resultados de la viscosidad intrínseca de las muestras en films.....	50

Tabla 25. Resultados del ensayo de transparencia.....	51
Tabla 26. Medidas del espesor de los films	52
Tabla 27. Resultados de espesor, peso, área y gramaje de los films.....	53
Tabla 28. Resultados del ensayo de aldehídos de control y B4	54
Tabla 29. Resultados del ensayo de carboxilos	56
Tabla 30. Resultados de permeabilidad al aire con equipo BENTSEN	56
Tabla 31. Resultados de permeabilidad al aire con equipo BEKK.....	57
Tabla 32. Resultados del ensayo de Water Drop test	59
Tabla 33. Resultados del ensayo de blancura de los films según el fondo aplicado....	60
Tabla 34. Resultados del ensayo de densidad óptica de los films.....	61

Lista de gráficos

Gráfica 1. Resultados de blanqueo de las muestras B2, B4 y B6.....	21
Gráfica 2. Fracción poblacional del B4 (3 réplicas)	22
Gráfica 3. Fracción poblacional del control (3 réplicas)	22
Gráfica 4. Espectro de absorbancia de las muestras Control, B2, B4 y B6	25
Gráfica 5. Espectro de absorbancia de las muestras control, B2, B4 y B6 (ampliación 200 - 450 nm)	26
Gráfica 6. Comparación de la permeabilidad al oxígeno de las muestras control y B4	27
Gráfica 7. Comparación de viscosidad media con/sin NaBH ₄ dependiendo del nº de blanqueo aplicado.....	30
Gráfica 8. Espectro de absorbancia de B4 con/sin funcionalización con Ag (10 mM) .	33
Gráfica 9. Espectro de absorbancia de B4 con/sin funcionalización con Ag (10 mM) (ampliación)	34
Gráfica 10. Resultados de la tabla 18 y 19, del blanqueo respecto el nº de veces oxidado	46
Gráfica 11. Resultados de blanqueo respecto el nº de veces oxidado de B4 2/10	47
Gráfica 12. Resultados de blanqueo respecto el nº de veces oxidado de B4 22/10	49
Gráfica 14. Conductividad del control 11/10 (réplica 1)	54
Gráfica 13. Conductividad del control 11/10 (réplica 2)	54
Gráfica 15. Conductividad del B4 2/10 (réplica 3)	55
Gráfica 16. Conductividad del B4 2/10 (réplica 1)	55
Gráfica 17. Conductividad del control 11/10 (réplica 3)	55
Gráfica 18. Resultado de permeabilidad al O ₂ de B4 22/10 con HR% 0.....	57
Gráfica 19. Resultado de permeabilidad al O ₂ de B4 22/10 con HR% 70.....	58
Gráfica 20. Resultado de permeabilidad al O ₂ de B4 22/10 con HR% 40.....	58
Gráfica 21. Resultado de permeabilidad al O ₂ de B4 22/10 con HR% 80.....	58
Gráfica 22. Resultado de permeabilidad al O ₂ de B4 22/10 con HR% 90.....	59

Lista de esquemas

Esquema 2. Esquema de los ensayos que se han realizado con muestras en suspensión	3
Esquema 1. Esquema de los ensayos que se han realizado con films	3
Esquema 3. Montaje de los films en la cámara climática	16
Esquema 4. Ensayo de leaching.....	19

1. Introducció

El propòsit de este documento es presentar el planteamiento, la gestión de las actividades y la gestión del tiempo necesario para poder realizar el estudio.

2. Objetivo

El objetivo de este trabajo es la obtención de biofilms con propiedades funcionales avanzadas a través de un tratamiento de oxidación con ozono, para después ser utilizados como nuevos biomateriales.

3. Alcance

El estudio constará de los siguientes apartados para poder cumplir con el objetivo:

- Búsqueda bibliográfica de la nanocelulosa, de los diferentes métodos de oxidación de la celulosa, de los efectos de los grupos funcionales carbonilos y carboxilos en ella y de los efectos de oxidación en la nanocelulosa.
- Preparación de las muestras de nanocelulosa fibrilar (NFC) y aplicación de tratamiento con ozono.
- Caracterización fisicoquímica de las muestras a partir del espesor, gramaje, viscosidad intrínseca, propiedades ópticas, químicas, barrera y mecánicas.
- Análisis y discusión de los resultados obtenidos.

4. Requerimientos

Las limitaciones de este estudio son las siguientes:

- Los tratamientos y diferentes ensayos se llevarán a cabo en el laboratorio CELBIOTECH que se encuentra en el edificio TR4, utilizando sus equipos, metodologías desarrolladas por el grupo Paper Engineering y siguiendo las normativas de seguridad del propio laboratorio.
- El estudio se deberá desarrollar y finalizar en un total de 300 horas aproximadamente.

5. Justificación

En las últimas décadas, los consumidores, los gobiernos y las organizaciones no gubernamentales están tratando de equilibrar el crecimiento económico con las preocupaciones medio ambientales y sociales. Se prevé que, en un futuro, habrá una disminución de los productos derivados del petróleo a causa de su origen no renovable y su falta de biodegradabilidad. En procedencia de estos eventos, la demanda de tecnologías sostenibles aumentará como una fuente de productos químicos, materiales y energía (Nelson & Retsina, 2014).

A partir de la biomasa lignocelulósica se pueden obtener nuevos “biomateriales” o “biofuels” los cuales procederían de una fuente totalmente renovable y biodegradable. La celulosa representa alrededor del 50% de la biomasa lignocelulósica. Este polisacárido altamente abundante se utiliza como materia prima y fuente de materiales sostenibles a escala industrial. A partir de la celulosa se puede obtener la nanocelulosa, un nanomaterial con propiedades fisicoquímicas extraordinarias como la biocompatibilidad, la renovabilidad, la baja densidad, la biodegradabilidad, entre otras propiedades destacables. Este nuevo biomaterial revolucionará la industria en las próximas décadas (Klemm et al., 2011; Trache, Hussin, Haafiz, & Thakur, 2017).

Por otra parte, alrededor de 130 millones de toneladas de celulosa se extraen de la madera cada año para hacer papel y otros productos celulósicos. El proceso principal de extracción es el proceso Kaft, o también nombrado proceso al sulfato, obteniendo así la pasta de celulosa. Esta pasta contiene lignina que debe ser eliminada a través del blanqueamiento. Este procedimiento se realiza generalmente con dióxido de cloro, oxidando selectivamente la lignina residual, haciéndola eventualmente soluble. Sin embargo, se forman algunos fenólicos clorados altamente contaminantes. El ozono es un potente agente oxidante que puede ser utilizado como sustituto del dióxido de cloro, obteniendo beneficios ambientales y económicos (Pouyet, Chirat, Potthast, & Lachenal, 2014).

6. Celulosa

La celulosa ($C_6H_{10}O_5$)_n (donde n es el número de unidades que se repiten o el grado de polimerización) es el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza y se encuentra en las paredes celulares y las partes leñosas de las plantas, entre otras.

La celulosa es una macromolécula, polímero natural lineal, formado por la unión de entre 3.000 y 5.000 D-glucosa, que es la unidad básica. Esta, se enlaza sucesivamente a través de un enlace glucosídico en la configuración β(1-4) para formar moléculas de celobiosa, que es la unidad más pequeña (B. Roncero Vivero, n.d.) (ver figura 1).

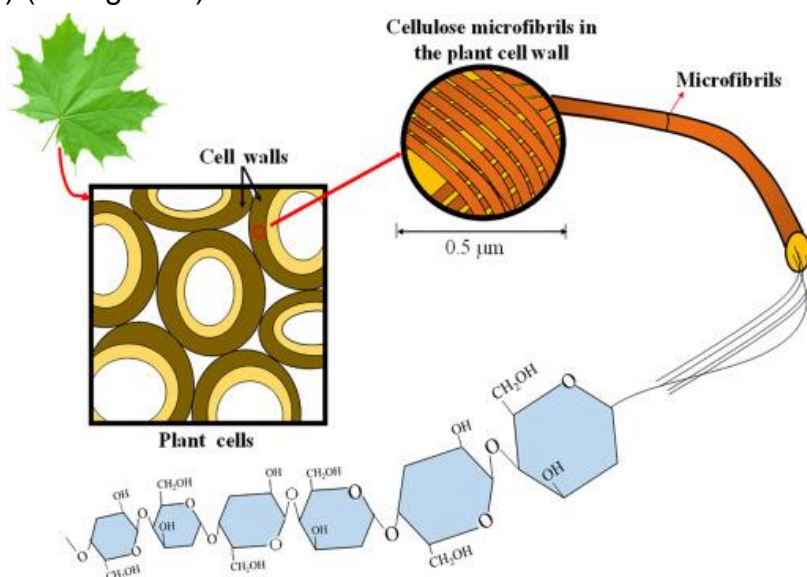


Figura 1. Esquema de las fibras de celulosa en la pared celular de una planta
Referencia: Dhyani, V., & Bhaskar, T. (2019). Cellulose fibers in the cell wall.

Cada unidad estructural β-D-glucopiranososa está compuesta por carbono, hidrogeno y oxígeno, y se agrupan en tres grupos de hidroxilo libres (uno primario y dos secundarios).

La celobiosa se repite constantemente, formando de 30 a 100 cadenas empaquetadas a través de las fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno para formar microfibrillas (ver figura 2).

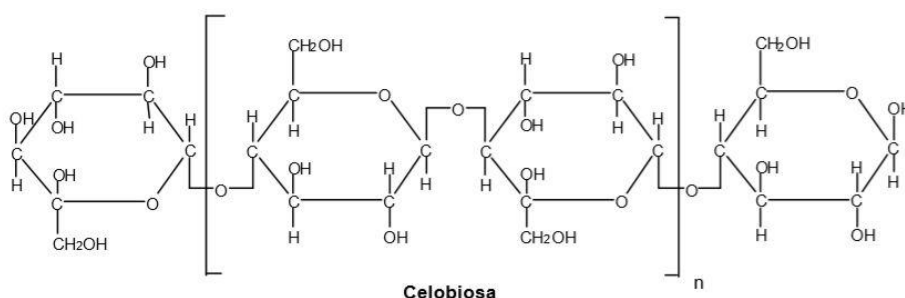


Figura 2. Estructura de la celobiosa, unidad más pequeña de la celulosa.

Referencia: B. Roncero Vivero (2001). Molécula de celobiosa. Recuperado de: Obtención de una secuencia "TCF" con la aplicación de ozono y enzimas para el blanqueo de pastas madereras y de origen agrícola.

Dependiendo de la unión de hidrógeno intramolecular e intermolecular, las orientaciones moleculares, métodos de extracción y tratamiento, la celulosa puede existir como varios polimorfos o alomorfos (Trache et al., 2017) (ver figura 3). En la estructura de la celulosa se pueden encontrar regiones cristalinas y regiones amorfas. Las zonas más cristalinas son más difíciles de penetrar por disolventes y reactivos, al contrario de las zonas amorfas.

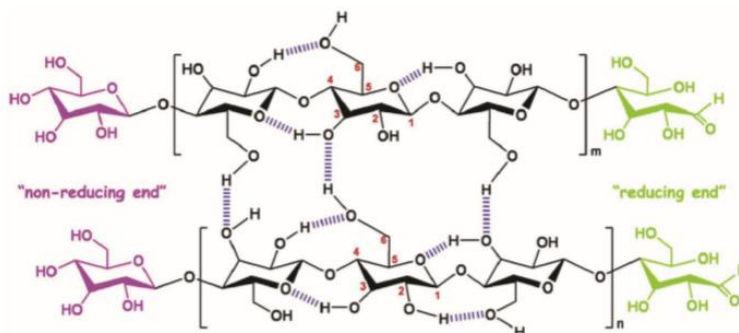


Figura 3. Ejemplo de estructura de celulosa polimorfa y alomorfa.

Referencia: D. Trache, M. Hussim, M. Haafiz et al. (2017). Schematic representation of the chemical structure and intra-, inter-molecular hydrogen bonds in cellulose. *Recuperado de: Recent progress in cellulose nanocrystals: Sources and production. Nanoscale, 9(5), 1763–1786.*

6.1. Celulosa y sus derivados

La celulosa, al ser una cadena lineal con enlaces 1,4- β glucosídicos, forman estructuras rígidas por falta de cadenas laterales. Tiene una estructura semicristalina que puede variar dependiendo del tipo de fuente de la cual es aislada (Arthur, 1989; Brigham, 2018; Dhyaní & Bhaskar, 2019; Srivastava, 2002). Además, la estructura presenta tres grupos OH, permitiendo que reaccionen como un alcohol, un éster o un éter (P. F. Gañán-Rojo, 2017). Gracias a esto, es posible hacer muchas modificaciones químicas como derivados de celulosa.

Uno de los derivados de la celulosa es la metilcelulosa, muy conocido por su uso para la encapsulación. Es soluble en agua fría y se convierte en gel al calentarla a partir de los 50°C. Esta se utiliza para la formación de nanopartículas, gracias a su buena propiedad de formación de película (Chang y Zhang, 2011).

Por otra parte, un derivado insoluble en agua es la etilcelulosa. Esta se utiliza para el revestimiento en materiales de aplicaciones de liberación controlada (Kedia & Dubey, 2018).

Como se ha mencionado anteriormente, gracias a los diferentes tipos de fuentes en que se encuentra la celulosa, es posible aislarla en diferentes escalas incluso a nivel nanométrico (P. F. Gañán-Rojo, 2017)(ver figura 4). En este nivel, se encuentra la nanocelulosa, una celulosa con una dimensión de 10 nanómetros aproximadamente, con una gran combinación de características biofísicoquímicas.

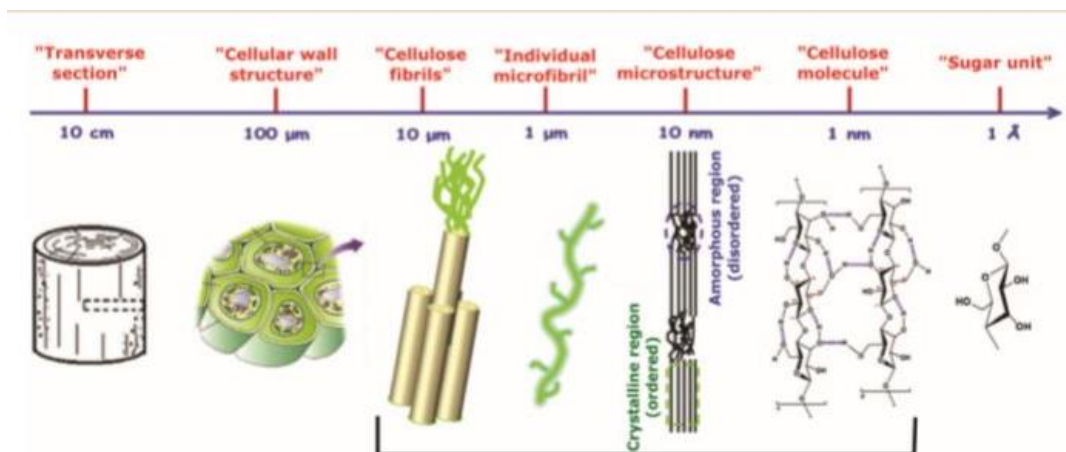


Figura 4. Esquema de la estructura jeràrquica de la cel·lulosa i els seus tipus de nanomaterials

Referencia: D. Trache, M. Hussin, M. Haafiz et al. (2017). Hierarchical structure of cellulose and its nanomaterials types. Recuperado de: *Recent progress in cellulose nanocrystals: Sources and production*. *Nanoscale*, 9(5), 1763–1786

En la actualitat, la nanocel·lulosa té un gran potencial per fabricar productes de alto valor con un bajo impacto en el medio ambiente (Trache et al., 2017).

7. Nanocel·lulosa

7.1. Introducció a la nanocel·lulosa

La nanocel·lulosa és un nanomaterial de cel·lulosa (NMC) aïslat con una, dos o tres dimensions externes en la nanoescala. Este NMC se considera que està en el rango de la nanoescala si los diàmetros o anchos de las partículas fibrilares están entre 1 y 100 nm (Klemm et al., 2011). A partir de diferentes procesos de aislamiento, se obtienen tres tipos de nanocel·lulosa, la cel·lulosa nanofibrilar o nanocel·lulosa fibrilar (NFC), la nanocel·lulosa cristalina (NCC) y la nanocel·lulosa bacteriana (BNC).

La nanocel·lulosa ha recibido un enorme interés tanto en la industria como en el mundo académico debido a sus increíbles propiedades biofísicoquímicas.

La novedosa nanocel·lulosa, abre a los campos de la biomedicina, la farmacéutica, la electrónica, entre otros, una fuerte expansión en los materiales sostenibles y nanocompuestos, así como en los dispositivos médicos y de las ciencias de la vida (Nelson & Retsina, 2014). También ha dado lugar a varios avances catalíticos fundamentales como:

- 1) La demostración del uso de la nanocel·lulosa como aditivo en la resistencia física y revestimiento para productos de papel/cartón y nanocompuestos.
- 2) La funcionalización de la nanocel·lulosa para proporcionar un espectro más amplio de las propiedades físicas.

Actualmente, se están desarrollando nuevos recursos, nuevos procedimientos de extracción y nuevos tratamientos para satisfacer la creciente demanda de

fabricación de nuevos tipos de nanomateriales basados en la nanocelulosa a escala industrial, gracias a la participación de investigadores académicos, laboratorios, la industria y los empresarios (Klemm et al., 2011; Nelson & Retsina, 2014).

7.2. *Métodos de obtención de nanocelulosa*

La nanocelulosa tiene el potencial de interrumpir las cadenas de suministro de plásticos basados en combustibles fósiles, introduciendo un nuevo material renovable a bajo coste. Aislada directamente de la biomasa, la nanocelulosa puede ofrecer beneficios, tanto en el ciclo de vida y en los costes respecto a los biopolímeros (Nelson & Retsina, 2014).

Aunque la celulosa se puede encontrar en cualquier componente vegetal, se deben aplicar diferentes procesos para obtenerla de manera pura.

Obtención de nanocelulosa fibrilar (NFC):

La NFC aislada se encuentra en las paredes celulares de las fibras lignocelulósicas. Estas fibras vegetales están compuestas por bandas microfibrilares (superiores a 100 nm), microfibras (entre 10 nm y 30 nm) y fibrillas elementales (entre 2 nm y 4 nm), que están rodeadas por la matriz de lignina y hemicelulosa. Para obtener la NFC de la pared celular, se necesita una energía mecánica muy alta. Los métodos mecánicos más comunes de obtención de NFC son la trituración, el crio-triturado, la homogeneización a alta presión, la ultrasonificación, y el tratamiento mecánico precedido de un tratamiento químico o enzimático (Nelson & Retsina, 2014). Utilizando estos métodos, se obtienen nanofibrillas de 20 nm a 40 nm de ancho, siendo más largas que las NCC. Todos los métodos anteriores consisten en romper en trozos más pequeños las microfibras de la celulosa en nanofibrillas mediante procesos mecánicos.

Obtención de nanocelulosa cristalina (NCC):

Las fibrillas de celulosa tienen muchas regiones cristalinas debido a su naturaleza lineal y homogénea del polímero y a la extensa unión del hidrógeno entre cadenas adyacentes de celulosa. El grado de cristalinidad y tamaño de las regiones cristalinas dependen de los procesos aislados (Nelson & Retsina, 2014). Para los NCCs, se utiliza un proceso primario basado en la hidrólisis ácida.

Este método consiste en utilizar una concentración de ácido y agua ionizada mezclada con la celulosa pura. El procedimiento implica la desestructuración de la parte amorfa de la celulosa mediante el ácido. Esto sucede gracias a la diferencia de cinemática que hay entre las regiones cristalinas y amorfas, haciendo que el ácido ataque de forma selectiva a la parte amorfa (ver figura 5).

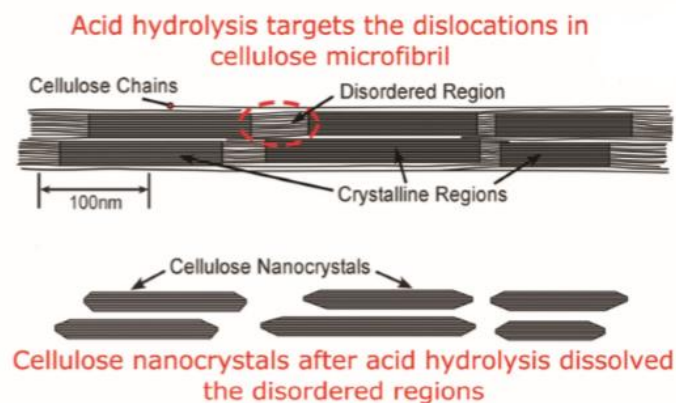


Figura 5. Esquema de proceso de hidrólisis ácida de la nanocelulosa

Referencia: D. Trache, M. Hussin, M. Haafiz et al. (2017). Simplified structure of a cellulose microfibril with crystalline segments irregularly interrupted by disordered segments. Disordered segments can be selectively targeted with controlled acid hydrolysis, leading to the isolation of cellulose nanocrystals. Recuperado de: Recent progress in cellulose nanocrystals: Sources and production. *Nanoscale*, 9(5), 1763–1786.

Al final del proceso, la mezcla se somete a una serie de pasos de separación y lavado que es seguido por una diálisis contra el agua desionizada para eliminar el ácido residual y las sales neutralizadas (Trache et al., 2017).

Obtención de nanocelulosa bacteriana (BNC):

La BNC es un nanomaterial producido por varias especies de bacterias de fermentación ubicuas, entre las que destaca el *Gluconacetobacter xylinus*. Estas tienen un tamaño lateral de 7 nm a 10 nm, que se agregan a microfibras planas con un ancho de 60 nm a 150 nm. Estas microfibrillas se entrelazan y forman bandas de estructura esponjosas llenas de agua (Klemm et al., 2011).

7.3. Oxidación de la celulosa

La celulosa se puede oxidar, formando diferentes grupos funcionales (ver figura 6). Estas reacciones se pueden dar en los OH presentes en los carbonos C1, C2, C3 y C6 de una unidad de glucosa (M. B. (María B. Roncero Vivero, 2001) obteniendo:

- Grupos cetonas sobre el carbono C2 y/o C3
- Grupos aldehído en el carbono C6 o en los carbonos C2 y C3 (dialdehídos)
- Grupos carboxilo en los carbonos C1, C2, C3 y C6.

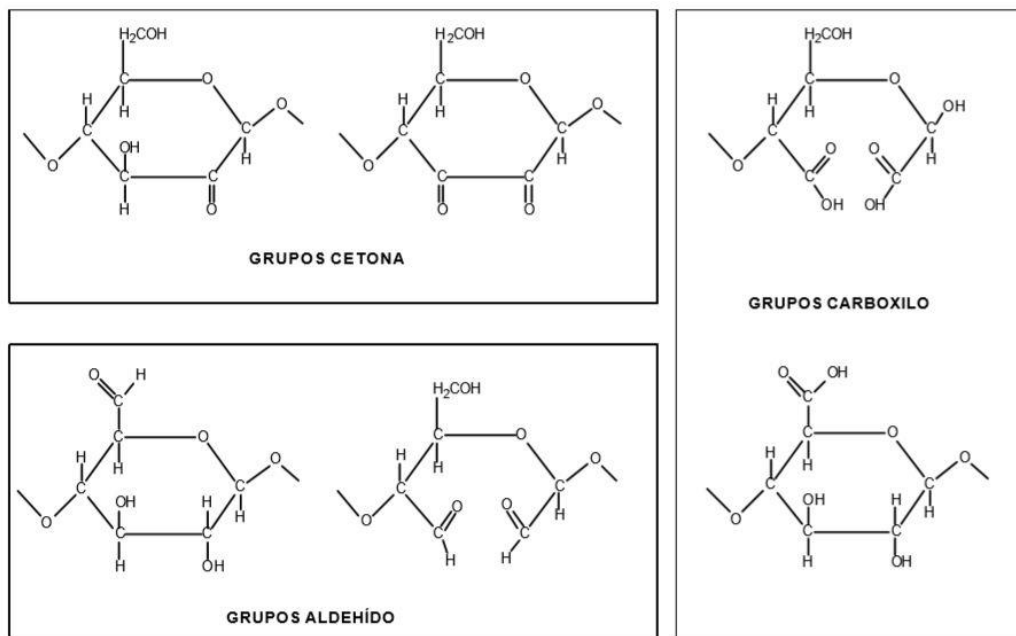


Figura 6. Ejemplos de las estructuras moleculares de los grupos cetona, aldehído y carboxilo

Referencia: B. Roncero Vivero (2001). Ejemplos de grupos carbonilo (cetona y aldehído) y carboxilo. Recuperado de: Obtención de una secuencia "TFC" con la aplicación de ozono y enzimas para el blanqueo de pastas madereras de origen agrícola. Optimización de la etapa Z.

Estos grupos funcionales dependerán del reactivo utilizado durante la oxidación de la celulosa.

Las condiciones oxidativas pueden ser naturales, por contacto con gases (por ejemplo, O_2 , O_3 y halógenos), por productos químicos agresivos del entorno, por la luz y la irradiación, o por el aumento de las temperaturas. Como consecuencia de estas influencias físicas y químicas, la celulosa sufre cambios moleculares reflejados por pérdidas de peso molecular. Además, la oxidación de la celulosa es un fenómeno que suele ir relacionado con su envejecimiento produciendo amarilleamiento, originando la formación de cromóforos (Ahn et al., 2019).

Como se ha mencionado anteriormente, en la oxidación hay diferentes grupos: tipo carbonilo ($C=O$), como cetonas o aldehídos y tipo carboxilo ($COOH$).

Los grupos carbonilo (aldehídos y cetonas) hacen sensible a la celulosa en un medio alcalino, produciendo una rápida degradación de la misma.

Los grupos carboxilo presentes en la pasta aumentan el hinchamiento de la fibra y también, aumenta la posibilidad de hidrólisis de los enlaces glucosídicos durante un prolongado almacenaje o con un aumento de temperatura, dando lugar a la degradación de la celulosa (M. B. (María B. Roncero Vivero, 2001).

La oxidación se puede obtener por diferentes métodos, como se ha mencionado anteriormente. Uno de los métodos más conocidos es el método que usa TEMPO. Este consiste en la oxidación química relativamente selectiva de grupos hidroxilos primarios (C_6) de celulosa a grupos aldehído o carboxilo (Jaušovec, Vogrinčič, & Kokol, 2015). Otro método es el uso del periodato que formaría el dialdehído de celulosa. El periodato oxida los alcoholes de los carbonos C_2 y C_3

a aldehídos. Como novedad, en este trabajo se utilizará el ozono para oxidar la celulosa, el cual se explica en el apartado 7.3.1.

7.3.1. Oxidación con ozono

El ozono (O_3) es un gas con un elevado poder oxidante con un peso molecular de 48. Su potencial electronegativo es superior a casi todos los elementos exceptuando el flúor y el oxígeno atómico. El ozono se genera a través de una descarga eléctrica en presencia del oxígeno a causa de su inestabilidad (M. B. (María B. Roncero Vivero, 2001).

El ozono (O_3) se ha usado tradicionalmente como agente de blanqueo en la industria papelera. El blanqueo de la pasta de papel consiste en la eliminación en gran medida de la lignina y cualquier sustancia coloreada de la pulpa. La lignina es un polímero que se encuentra principalmente en la pared de la célula de la planta que proporciona rigidez estructural a la estructura de la planta.

El ozono es un buen agente de blanqueo gracias a su gran potencial ambiental y económico a diferencia de los otros tratamientos de blanqueo, como el dióxido de cloro (Pouyet et al., 2014). Uno de sus principales problemas en el blanqueo de pasta para hacer papel es que el ozono no es totalmente selectivo por la lignina y ataca también a la celulosa. Esto provoca unas propiedades finales de las pastas por debajo de los valores normales del mercado (Buchert, J., Bergnor, E., Lindblad, G., Viikari, L., Ek, M., 1995)

Debido al gran interés reciente en funcionalizar la celulosa para obtener nuevas propiedades, el grupo CELBIOTECH empezó a trabajar en el 2016 en la oxidación de fibras de celulosa mediante ozono. Se han realizado varios trabajos final de grado (Díaz Lucea, Pilar, 2011; Junyent Blanco, 2017), dónde se evalúa el efecto del ozono en oxidar fibras vegetales procedentes de eucalipto o algodón. Los resultados fueron muy positivos, y para ello, se decidió en este trabajo oxidar fibras de nanocelulosa, lo cual no hay ningún estudio similar hasta la fecha.

Trabajos anteriores, han demostrado que, a diferencia del TEMPO o el periodato, la oxidación con ozono generalmente forma mayor cantidad de grupos carbonilo del tipo cetona, en comparación a la de aldehídos y carboxilos (Buchert, J., Bergnor, E., Lindblad, G., Viikari, L., Ek, M., 1995).

7.3.2. Problemática

Uno de los principales problemas que se ha tenido en este estudio, ha sido la falta de información sobre la oxidación con ozono de la nanocelulosa. Hay varios artículos sobre la oxidación con periodato de la nanocelulosa, tanto NFC como NCC, con metodología y resultados, a diferencia de la oxidación con ozono. Este

es un campo completamente nuevo y hace que se deba plantear previamente la metodología experimental. También dificulta la discusión de los resultados, ya que no se tiene ninguna documentación científica a la que se pueda comparar o consultar.

Cada experimento realizado, se ha tenido que repetir y modificar hasta adaptarlo a los biofilms y la pasta de NFC. Esto ha requerido más tiempo y recursos materiales durante todo el estudio.

Otro factor a tener en cuenta, ha sido la materia prima (NFC). Esta se encontraba en forma de pasta blanqueada, con una humedad del 97% y una alta viscosidad, dificultando la utilización de la maquinaria del tratamiento de ozono. Esto podría suponer una menor efectividad de la oxidación de la nanocelulosa.

Para finalizar, se ha tenido que utilizar otros métodos para comprobar que la oxidación de la NFC se ha realizado con éxito. Una de ellos, ha sido la funcionalización con plata, utilizando una reacción de cambio de iones con los grupos carbonilos creados durante la oxidación (Saito et al. 2005; Matsumoto et al. 2006).

8. Metodología experimental

En este estudio, se han realizado diferentes experimentos para obtener la caracterización y propiedades del biofilm de nanocelulosa fibrilar oxidada. También, se ha necesitado una serie de materiales y equipos para medir y elaborar dichas pruebas. En este apartado, se explica los materiales, equipos y ensayos que se han realizado para las muestras en suspensión y films del estudio.

8.1. *Materiales y equipos*

En este apartado, se mencionan todos los productos, materia prima, máquinas y materiales específicos que se han empleado durante todo el estudio para ejecutar los ensayos. Todo el material y equipamiento básico del laboratorio, como por ejemplo vasos de precipitado, buretas, espátulas, entre otros, solo aparece en el documento “Presupuesto” adjuntado aparte en este estudio.

Durante toda la experimentación, se utilizó siempre agua destilada. También, esta se utilizó para aclarar todo el material de laboratorio una vez limpiado con jabón y agua del grifo. En caso de los viscosímetros capilares, se tuvieron que aclarar con alcohol de 90°.

8.1.1. Equipo utilizado

En una gran parte de las pruebas realizadas en este estudio, han sido necesario la utilización de equipos especializados en la industria papelera y otros equipos de laboratorio. A continuación, se hace una breve descripción de los equipos utilizados:

- Espectrofotómetro UV, VARIAN CARY 100

Es un instrumento que sirve para medir, a través de la luz, la cantidad de energía radiante que absorbe o transmite una muestra química o biológica en función de la longitud de onda. El rango de longitud de onda está comprendido entre 190 y 900 nm, con una banda espectral de 0,2 - 4 nm (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-c).



Figura 7. Espectrofotómetro UV, VARIAN CARY 100

- Espectrofotómetro abreviado de reflectancia, Technidyne Color Touch PC

Equipo que evalúa las características ópticas de muestras de papel y otras superficies, para las longitudes de onda entre 400 nm hasta 700 nm. Identifica las diferencias de color y grado de blancura de una muestra a partir de medidas de blancura ISO (ISO brightness)(Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-b).

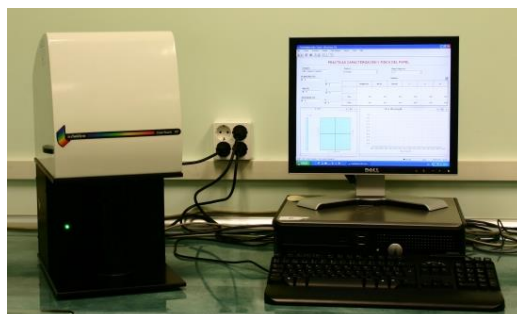


Figura 8. Espectrofotómetro abreviado de reflectancia Technidyne Color Touch PC

Referencia: Technidyne Color Touch PC. Recuperado de:

<https://www.upc.edu/sct/es/equip/724/espectrofotometro-abreviado-reflectancia.html>. Consultada el 31 de diciembre de 2019.

- Densitómetro, X-Rite 418

Equipo que permite la determinación, de manera indirecta, de la luz absorbida por una superficie por reflexión, también llamada densidad óptica, medida en cyan, magenta, amarillo y negro (CMYK). Permite identificar el aumento del valor tonal (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-a).

- Cámara climática, INELEC

Equipo que reproduce ambientes con condiciones de temperatura y humedad contraladas, programable y adecuado para la realización de ciclos.



Figura 9. Cámara climática INELEC

- Micrómetro digital, FRANK Digital 16502

Equipo que permite la determinación de espesor de papel y cartón según norma ISO 534, ISO 12625-3, para rangos de espesor comprendidos entre 0 y 20 mm (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-h).



Figura 10. Micrómetro digital

Referencia: Micrómetro digital. Recuperado de:

<https://www.upc.edu/sct/es/equip/601/micrometro-digital.html#>. Consultada el 31 de enero de 2019.

- Formador de hojas de ensayo de laboratorio, método Rapid-Köthen, Frank:

Equipo que permite la elaboración de hojas de ensayo de laboratorio y para la realización de ensayos físicos y mecánicos según norma ISO 5269-2. Dispone

de 4 secadoras, que prensan y secan el papel, gracias al vacío y calor que produce la máquina (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-d).



Figura 11. Formador de hojas de ensayo de laboratorio

- Medidor de longitud de fibras, KAJAANI FS300

Equipo que permite procesar las imágenes y las medidas de longitud de fibras, según normas ISO 16065-1 y 16065-2 (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-f).



Figura 12. Medidor de longitud de fibras

- Permeabilímetro Bendtsen para papel, Anderson&Sorensen Mod. 5

Equipo que permite la determinación y medida de la permeabilidad al aire de muestras de papel y cartón, según norma ISO 5636-3, mediante método Bendsten (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-j).

- Medidor digital de lisura Bekk, Messmer Büchel K533

Equipo que permite la determinación de la lisura y de la permeabilidad al aire, mediante método Bekk, según norma ISO 5672 (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-g).

- Planta de tratamiento con ozono

Equipo consistente en una planta automatizada de tratamientos con ozono, formada por un generador de ozono, medidores de caudal, analizadores de ozono y software específico para el tratamiento de blanqueo de pasta de papel de alta y baja consistencia (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-k). El equipo es fabricado y automatizado por el grupo de investigación CELBIOTECH.



Figura 13. Planta de tratamiento con ozono

- Microscopio óptico, Olympus BH2

Equipo que permite la observación y caracterización de muestras transparentes o translúcidas, por transmisión de luz. Adecuado para la caracterización cualitativa y cuantitativa de componentes fibrosos de pasta de papel, papel y cartón (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-i).



Figura 14. Microscopio óptico

Referencia: Microscopio óptico Olympus BH2. Recuperado de:
<https://www.upc.edu/sct/es/equip/602/microscopio-optico.html>. Consultado el 31 de diciembre del 2019.

- Viscosímetro automático, SCHOTT IBERICA AVS 350

Equipo consistente en un viscosímetro automático específico para la determinación del valor límite de viscosidad para muestras de pasta de papel que han sido blanqueadas químicamente con CED, según norma ISO 5351 (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-I).

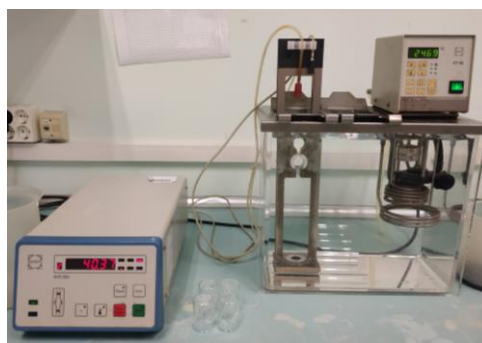


Figura 15. Viscosímetro automático

- Máquina universal de ensayos

Equipo electromecánico que permite la realización de ensayos de tracción, compresión y resistencia al desgaste, con software de control y de adquisición de datos (Servicios Científico-técnicos de la UPC, n.d.-e).



Figura 16. Máquina universal de ensayos

- Analizador de humedad, SARTORIUS MA100

Equipo que analiza la humedad de las muestras.

- Centrifugadora, Hettich EBA 21

Equipo que permite la centrifugación de mezclas mediante la aplicación de una fuerza centrífuga.



Figura 17. Centrifugadora

- Sistema de pruebas Water Vapor Transmission Rate (WVTR), PERMATAN-W Model 1/50

Equipo para medir el índice de transmisión de vapor de agua para films. Cumple con las normas ADTM E398 y TAPPI 523.



Figura 18. Sistema de pruebas Water Vapor Transmission Rate

8.1.2. Material utilizado

Durante la parte experimental del estudio, se ha utilizado materiales específicos para cada prueba, así como productos químicos. Pero antes de mencionar estos, se debe hablar de la materia prima de la cual se componen los biofilms.

Materia prima

Los biofilms están hechos de NFC, proporcionado y producido por la Universidad de Maine (Maine, Estados Unidos). Esta materia prima se encuentra en forma de pasta blanqueada con un 97 % de humedad y solo el 3% de ella es nanocelulosa. El resto del producto es un conjunto de fibras celulósicas que no se han logrado romper sin llegar a alcanzar una medida nano.

Durante todo el estudio, se ha utilizado la misma muestra de NFC, depositada el día 26/04/2019 en un pote de plástico herméticamente cerrado y guardada en la nevera.

Productos químicos

Cuando se oxida la nanocelulosa, se crean grupos funcionales como se explica en el apartado 7.3. Una de las maneras para observar ese cambio estructural, es utilizando reactivos químicos para crear otro tipo de grupos funcionales y así poderlos identificar con diferentes pruebas.

Los reactivos utilizados en los ensayos son:

- | | |
|---------------------|----------------------------|
| - Fenolftaleína | - Tinte Herzberg |
| - HCl 0,005 M | - CED |
| - NaOH 0,01 M | - AgNO ₃ 0,1 mM |
| - NaBH ₄ | - AgNO ₃ 10 M |

Materiales

En cada ensayo, se utiliza una serie de materiales y herramientas específicos para ese equipo. A continuación, se muestra una lista del material y de las herramientas con su nombre y su uso correspondiente:

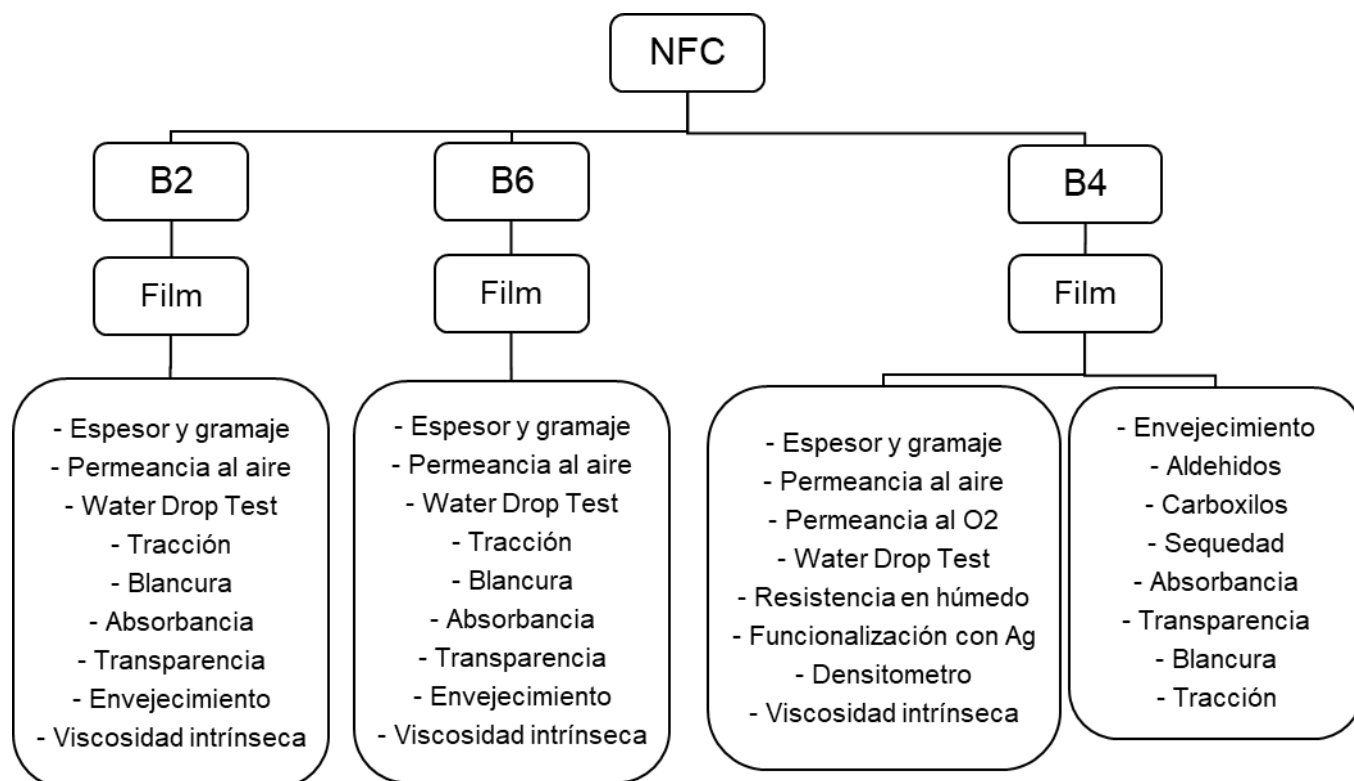
Nombre	Uso
Vaso de precipitado KAJAANI	Recipiente con medidas especiales donde se deposita la muestra para ser analizada en el equipo KAJAANI.
Molde para film	Plato de poliestireno con una base cuadrada de 100 cm ² , con tiras de papel que llevan por una cara Parafilm, pegadas con silicona. Estas tiras se encuentran de manera vertical delimitando la base del plato. Se utiliza para hacer films de NFC.
Tubo de ensayo	Tubos de ensayos con medidas específicas para el uso de la centrifugadora.
Gradilla	Plancha metálica con agujeros. Se utiliza para enganchar los films en ella y ponerlos en la estufa para evitar que se vuelen. Se utiliza en el ensayo de envejecimiento.
Regla	Instrumento de forma rectangular para medir el tamaño de los films.
Papeles de colores	Papeles opacos de color amarillo, rojo, azul, y verde que se utilizan como fondo en el ensayo de Blancura.
Cubetas	Cubetas de 10 mL de cuarzo y de 1 mL plástico con medidas específicas para depositar la muestra y ser analizada por espectrofotómetro UV.
Desecador	Recipiente de vidrio que se utiliza para evitar que los solutos tomen humedad ambiental.
Viscosímetros Capilares	Instrumento para medir la viscosidad mediante el tiempo necesario para que un volumen determinado de líquido escurra a través de un capilar. Se utiliza en el ensayo de viscosidad intrínseca.
Mezclador KAJAANI	Herramienta para mezclar las fibras con el agua descalcificada. Se utiliza para el ensayo KAJAANI.
Mask	Máscara de aluminio con forma específica que recubre el film, dejando un área circular al descubierto de 5 cm ² . Se utiliza para el ensayo de permeancia O ₂ .

Tabla 1. Lista de materiales y herramientas específicas para los ensayos

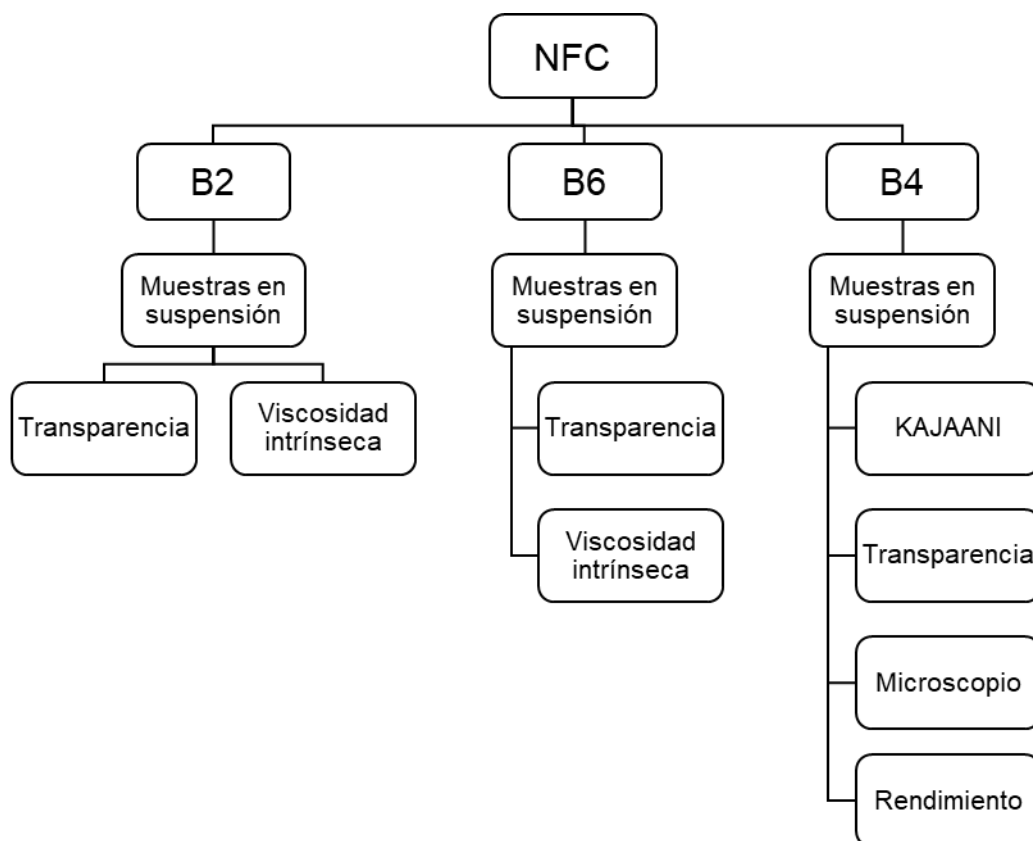
8.2. Ensayos

Para lograr la modificación funcional de biofilms de nanocelulosa, objetivo principal del estudio, se tuvieron que realizar diferentes ensayos explicados en este apartado. Toda la metodología que se ha utilizado para hacer estas pruebas ha sido muy importante, ya que al ser algo completamente nuevo, se ha tenido que adaptar cada ensayo a la nanocelulosa y se ha tenido que innovar, aplicando el método ensayo y error hasta conseguir una buena metodología para poder alcanzar unos buenos resultados.

Una vez la muestra era oxidada con ozono, se realizaron algunos ensayos de la muestra en suspensión, y otros a partir de los films obtenidos después de dejar secar la muestra. Los distintos ensayos realizados en cada tratamiento se muestran en los esquemas 1 y 2.



Esquema 2. Esquema de los ensayos que se han realizado con films



Esquema 1. Esquema de los ensayos que se han realizado con muestras en suspensión

8.2.1. Tratamiento con ozono

Como se menciona en el apartado 7.3.1., una manera de conseguir grupos funcionales en la nanocelulosa es oxidándola con ozono.

Durante todo el proceso de oxidación, se ha utilizado una concentración de 0,5 % de ozono por cada blanqueado aplicado a las muestras. Para conseguir el máximo de grupos funcionales en la NFC, se le aplicaron varios blanqueados.

En el primer ensayo, se decidió oxidar de la siguiente manera:

Muestra	Dosis aplicadas en la muestra
NFC B2	0,5 + 0,5 %
NFC B6	0,5 + 0,5 + 0,5 + 0,5 + 0,5 + 0,5 %

Tabla 2. Dosis aplicadas de ozono en la nanocelulosa fibrilar

Después de analizar los resultados, explicados en el apartado 8.2, se observó que la manera más óptima para la obtención de grupos funcionales es oxidar cuatro veces la muestra (B4).

Para oxidar la NFC, primero se debe preparar la muestra:

Se pesa en una balanza la NFC necesaria y se deposita en un balón de 500 mL. Después, se reparte la muestra por toda la parte inferior del balón con movimientos circulares o con una espátula, ya que ésta tiene una viscosidad suficientemente alta que evita que se deslice por el recipiente durante el ensayo. De esta manera, a la hora de aplicar el tratamiento será más fácil que el ozono penetre en la NFC.



Figura 20. Muestras de NFC preparadas para aplicar el tratamiento de ozono

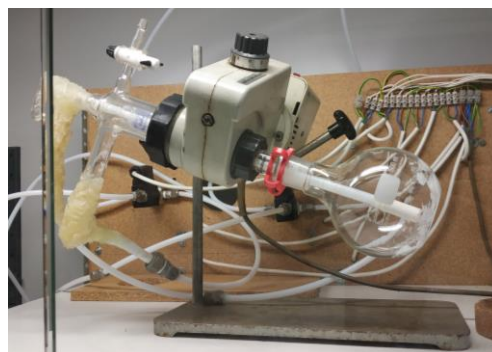


Figura 19. NFC aplicándose el tratamiento de ozono

A continuación, se le aplica el tratamiento con ozono en la planta de tratamiento con ozono. Para poner a funcionar el equipo, se tiene que seguir una serie de instrucciones que el propio software proporciona. Se deberá introducir el programa las siguientes especificaciones: alta consistencia con retraso, 0,5 % de concentración de ozono, 0,31 g de pasta seca, 3 % de consistencia, 155 l/h cabal de ozono y 50 Hz de frecuencia. Las condiciones de aplicación se

escogieron de acuerdo con resultados previos (Junyent Blanco, 2017; Romera, 2016) dónde se encontraron las mejores condiciones de oxidación de las fibras de celulosa.

Durante el ensayo, se oxida varias veces la muestra sin quitar el balón hasta obtener el porcentaje de blanqueado deseado (dado por la máquina generadora de ozono). Finalizado el ensayo, se le añade 80 mL de H₂O destilada por cada 5,2 g de NFC en húmedo, se tapa el frasco y se agita en el vórtex hasta que la pasta queda completamente homogénea con el agua (ver figura 21). A continuación, se lleva a la campana extractora y se divide en probetas de plástico (correspondientes a la centrifugadora) de manera equitativa y se marcan para diferenciarlas (ver figura 22).



Figura 21. Muestras oxidadas después de aplicar el tratamiento de ozono

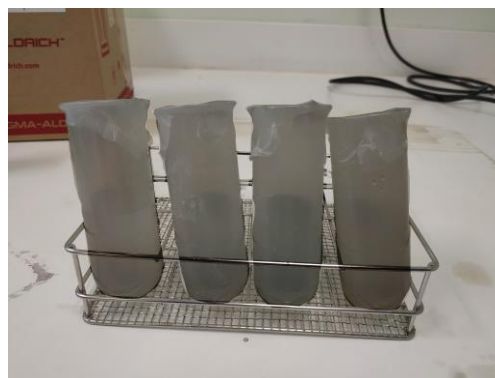


Figura 22. Muestras oxidadas y centrifugadas preparadas para lavar

Se les aplican una centrifugación de 6.000 rpm durante 20 min e inmediatamente, se les extrae toda el agua sobrante mediante micropipetas de 5 mL para conseguir eliminar el exceso de ozono que pueda haberse quedado en la muestra. Finalmente, se adjuntan las probetas según su muestra en un bote de cristal, se identifican con una etiqueta y se guardan en la nevera.

8.2.2. Muestras en suspensión

Una muestra en suspensión consiste en la pasta oxidada por ozono una vez lavada y mezclada con agua destilada. La cantidad de mL de H₂O añadida respecto el peso de NFC sigue la siguiente relación:

$$0,157 \text{ g NFC en seco} \rightarrow 50 \text{ ml H}_2\text{O}$$

Se aplicaron diferentes ensayos destructivos a las muestras en suspensión (ver esquema 2) para observar los cambios que sufrió la NFC al oxidarse con ozono.

8.2.2.1. Viscosidad intrínseca

La viscosidad de las pastas está directamente relacionada con el grado de polimerización de las moléculas de la celulosa y, consecuentemente de la nanocelulosa. Cuando la nanocelulosa se oxida con ozono, esta produce una gran cantidad de carbonilos, haciendo que sea sensible en medio alcalino. Esta sensibilización produce una rápida degradación de las fibras y, por lo tanto, una disminución de la viscosidad. Para evitar esta degradación, se pueden reducir los grupos carbonilos a grupos alcohol. Esta reacción química se puede conseguir utilizando el borohidruro sódico (Junyent Blanco, 2017).

En la metodología experimental de la viscosidad intrínseca, se ha decidido hacer ensayos con NaBH_4 y sin NaBH_4 .

Viscosidad

Para determinar la viscosidad, se colocó 25 g húmedos (0,755 g secos) de muestra y 25 mL de CED en un pote de plástico de 50 mL. Este, se tapó y se dejó mezclando en un agitador oscilante durante 50 min (ver figura 23). Después, se cogió otro pote de 50 mL y se mezcló 25 mL de H_2O y 25 mL de CED en él para poder hacer el ensayo en blanco. Este ensayo, es necesario realizarlo siempre que se utilice la máquina para poder hacer los cálculos de viscosidad. A continuación, se introdujo 20 mL de muestra mezclada en el viscosímetro capilar y se puso en el viscosímetro. El equipo calculó automáticamente el tiempo que tardaba en recorrer el capilar.

Con el resultado obtenido, se utilizó una plantilla de hoja de cálculo diseñada por el laboratorio Celbiotech para calcular la viscosidad.

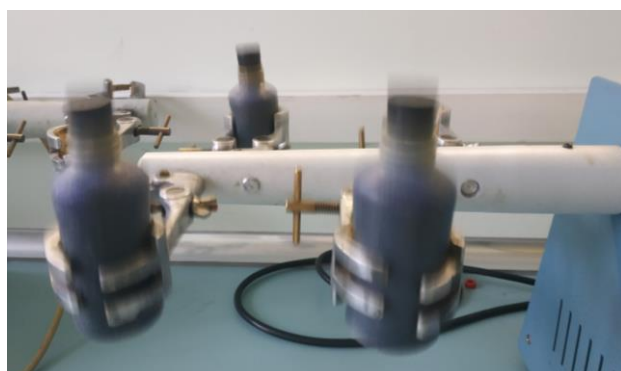


Figura 24. Muestras oxidadas mezclándose con CED para realizar el ensayo de viscosidad



Figura 23. Ensayo de la viscosidad intrínseca mediante el viscosímetro automática

Viscosidad al borohidruro

El método de obtención de la viscosidad con NaBH_4 es exactamente el mismo, excepto que la muestra del principio se le aplica un tratamiento con borohidruro de sodio.

Para la preparación de la muestra con NaBH_4 , se utilizó 2 g NaBH_4 por cada 100 g secos de NFC (ver cálculos en el anexo B). Una vez se obtuvo el peso necesario para 25 g NFC en húmedo, se vertió el reactivo con la muestra en un pote de plástico. Este se agitó y se dejó reposar durante 24 h completamente a oscuras. Una vez transcurridas las 24 h, se procedió a lavar la muestra siguiendo el mismo método que en el tratamiento de ozono (ver apartado 8.2.1). En vez de lavarla una vez, se hizo hasta un total de 3 veces. Midiendo entre cada lavado el pH del H_2O que se extrajo de la muestra.

Finalmente, se obtuvo 25 mL de muestra necesaria para medir la viscosidad según el método explicado en el apartado anterior.

8.2.2.2. Transparencia

La transparencia de una muestra se calcula con la siguiente ecuación:

$$\text{Transparencia} = \frac{\log(\% T_{600})}{\text{espesor muestra [mm]}} \quad \text{Ecuación 1}$$

El valor de la transmitancia (T_{600}), con una longitud de onda del rayo incidente de 600 nm, se obtiene analizando la muestra con el espectrofotómetro UV.

Para utilizar el espectrofotómetro UV, se preparó una muestra en suspensión de una concentración de 0,1 g NFC por 100 mL de muestra total (ver cálculos en el anexo C). Ésta, se puso en una cubeta de metacrilato de 1 mL y se introdujo en el espectrofotómetro. Finalmente, se obtuvo la transmitancia de la muestra y se aplicó la ecuación 1 para obtener la transparencia.

8.2.2.3. Rendimiento

El rendimiento te indica el porcentaje de nanocelulosa fibrilar que tiene una muestra. Como se explica en el apartado 8.1.2, solo un 10 %, del 3% del total de la materia prima, es NFC.

Para hacer el ensayo de rendimiento, se cogió tres muestras oxidadas y tres sin oxidar de 6 mL cada una con una concentración de 0,1 % pasta (ver cálculos en el anexo C). El procedimiento de cada muestra fue el siguiente:

Se puso cada muestra en un pellet y se centrifugó a 2.200 G durante 20 min. Después, se decantó la muestra, dejando solo la parte precipitada en el pellet (ver figuras 25, 26 y 27).



Figura 27. Decantación de la NFC centrifugada



Figura 26. Muestra centrifugada para medir el rendimiento



Figura 25. NFC prepara para centrifugar

Finalmente, se dejó secar en el desecador y luego se pesó la muestra resultante.

8.2.2.4. KAJAANI

El ensayo KAJAANI mide la fracción poblacional según la longitud de fibras de la muestra analizada.

En esta prueba, se utilizó tres muestras oxidadas y sin oxidar de 6 mL cada una con una concentración de 0,1 g NFC por 100 mL de muestra total (ver cálculos en el anexo C). El procedimiento de cada muestra fue el siguiente:

Primero, se depositaron los 6 mL en un tubo de plástico, se centrifugó a 2.200 g durante 20 min y se decantó, dejando solo la pasta sobrante en el fondo del recipiente. La parte decantada corresponde a la fracción de celulosa con tamaño nanométrico. Para que las fibras del pellet no estuvieran todas enganchadas entre sí, se usó el mezclador KAJAANI con 100 mL de agua descalcificada hasta que no fue visible ninguna fibra. A continuación, se utilizaron dos recipientes KAJAANIS, llenando uno con 2/3 agua descalcificada de su volumen con la muestra ya mezclada. Después, se pasó la muestra de un vaso al otro 10 veces.



Figura 29. Mezclador KAJAANI



Figura 28. NFC preparadas para hacer el ensayo KAJAANI

Una vez pasada la muestra 10 veces, se cogió un vaso de precipitado de 50 mL y se colocó dentro de un recipiente KAJAANI vacío. El vaso de 50 mL debía sujetarse con la mano, de tal manera que no llegara a tocar el fondo del recipiente KAJAANI. Una vez preparado los dos recipientes correctamente, se prosiguió a verter toda la muestra en el vaso de 50 mL. De tal manera, que la resta de la muestra que se desbordó del vaso de precipitado, cayó en el recipiente del KAJAANI que se encontraba debajo.

Finalmente, se utilizó el medidor de longitud de fibras para que analizara los 50 mL de muestra que se encontraba en el vaso de precipitado.

8.2.2.5. Microscopio

El microscopio se utiliza para observar todas aquellas fibras que son de tamaño superior al nanométrico, pero no son visibles al ojo humano. Con este equipo, se pudo identificar alguno de los diferentes tipos de fibras de las que se componía la NFC que fue proporcionada por la Universidad de Maine.

Para poder visualizar las fibras por el microscopio, se hizo la prueba de tinción de Herzberg (ISO 9184) para teñir las diferentes fibras de la NFC y se utilizó el portaobjetos para depositar la muestra.

8.2.3. Films

La NFC es una pasta con un alto porcentaje de H₂O (para ver más en el apartado 8.1.2). Para poder caracterizar la muestra oxidada, se hicieron una serie de pruebas destructivas y no destructivas en las cuales, la muestra debía encontrarse en forma de film. El proceso de convertir la pasta de NFC en film, fue determinado por una doctoranda del grupo de investigación de Celbiotech, Júlia Fernández.

Según el método de Celbiotech, se utiliza 10,2 g NFC (en húmedo) con 63 mL de H₂O para hacer el film. Se mezcla todo en un vaso de precipitado, usando un mezclador magnético durante 30 min a unos 700 rpm aproximadamente. Después, se vierte en el molde (detallado en el apartado 8.1.2) y se deja reposar en la cámara aclimatada, que dispone las instalaciones, con unas condiciones de 23 °C y 50 % de humedad (ver figura 31). Una vez seca la muestra (ver figura 30), se extrae del molde. En caso de quedarse enganchado el film, se utilizará un cúter para cortar las zonas afectadas y así, obtener el máximo de muestra posible. Finalmente, el film se guarda en un sobre donde se identifica con la fecha en la que se ha realizado, las características y la persona que lo ha hecho. Este sobre, se debe guardar en la zona aclimatada para evitar que la temperatura y humedad sea un factor más a tener en cuenta en los resultados de los experimentos.

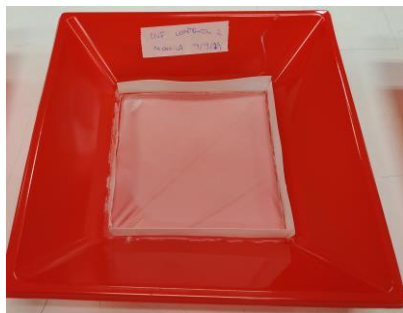


Figura 31. Muestra de NFC completamente seca dentro del molde

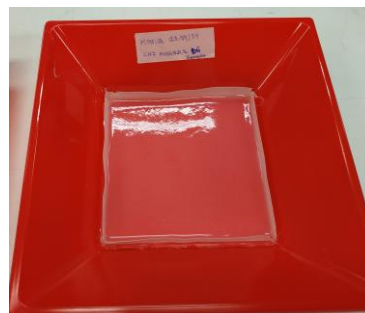


Figura 30. NFC mezclada con H₂O en el molde para hacer films

8.2.3.1. Espesor y gramaje

El espesor y el gramaje de un film es el primer ensayo que se realizaba, ya que estos valores eran necesarios para otras pruebas. Además, son ensayos no destructivos y fáciles y rápidos de hacer.

El gramaje se utiliza en toda la industria papelera como criterio para indicar la densidad superficial del papel. Para el gramaje de un film, primero se necesita saber la masa y el área.

Para medir el espesor, se utilizó el micrómetro digital. Para poder tener una medida más precisa, se realizó 10 veces el ensayo por cada film.

Para la obtención de la masa del film, se usó una báscula con una precisión de 3 decimales.

Finalmente, el área del film se midió utilizando una regla.

8.2.3.2. Sequedad

La sequedad es un valor que indica el porcentaje de falta de agua que tiene el papel o film.

Se utilizó el analizador de humedad para medir la sequedad mediante un pequeño trozo de film. El equipo calentó la muestra y calculó el porcentaje de sequedad.

8.2.3.3. Tracción

En el ensayo destructivo de tracción, calcula el máximo esfuerzo de tracción que el film puede soportar antes de romperse, entre otras propiedades mecánicas. Este máximo esfuerzo es la resistencia a tracción de la muestra.

Para ver la resistencia de las fibras se realizaron dos ensayos, uno en húmedo y otro en seco.

Resistencia en seco

Se cortó el film en 6 trozos (15 mm de ancho por muestra) con un cortador de papel, quitando los bordes con desperfectos. Después, se colocó en las mordazas de la máquina Universal ensayos con una distancia de 50 mm entre ellas (estas mordazas disponen de una pegatina en los extremos para que el film no se resbale durante el ensayo). Se puso un peso de 500 N y una velocidad de ensayo de 10 mm/min. A continuación, se procedió a utilizar el software de tracción en ensayo manual.

Resistencia en húmedo

En el ensayo en húmedo el procedimiento es el mismo que en seco, exceptuando que después de cortar el film, se dejó sumergido en agua durante 1 h y el peso de la máquina añadido fue de 25 N.

8.2.3.4. Aldehídos

El aldehído es un compuesto orgánico que pertenece al grupo funcional de los carbonilos como se menciona en el apartado 7.3. El método destructivo mediante el cual se ha determinado la cantidad de grupos aldehídos que se han podido formar al oxidar la NFC es el método Pommerening (Pommerening, Rein, Bertram, & Muller, 1992). Este método determina los grupos aldehídos mediante la siguiente fórmula:

$$\mu\text{moles grupos aldehidos} = \frac{\text{ml NaOH} - \frac{\text{ml HCl}}{2}}{\text{mg de muestra}} \quad \text{Ecuación 2}$$

En el ensayo, primero se preparó una disolución de NaOH 0,01 M, una disolución de HCl de 0,005 M enrasada en una bureta y 5 mg de NFC en seco (en forma de film). Después, se puso la muestra en un vaso de precipitado de 50 mL y se añadió 5 mL de NaOH. Se agitó magnéticamente la solución con una temperatura constante de 70 °C durante 15 min. A continuación, se retiró del agitador magnético y se añadió una gota de fenolftaleína, suficiente para teñir la solución de color fucsia. Se procedió a añadir gota por gota el HCl, moviendo constantemente con la mano, hasta que el color de la solución cambiara de fucsia a incoloro. A partir de los mL añadidos en la muestra, se calculó los grupos aldehídos con la ecuación 2.

8.2.3.5. Carboxilos

El carboxilo es un grupo funcional como se menciona en el apartado 7.3. Este método destructivo determina los grupos carboxilos mediante la siguiente fórmula:

$$\mu\text{moles grupos carboxilos} = \frac{(V_1 - V_0) \times C_{\text{NaOH}}}{g \text{ de muestra}} \quad \text{Ecuación 3}$$

En el ensayo se utilizó 50 mg de NFC en seco (en forma de film), una solución de HCl 0,01 M, una solución de NaOH 0,01 M y N₂ en gas. Primero, se puso la muestra en un vaso de precipitado de 50 mL y se le añadió 15 mL de HCl. Se procedió a trabajar en la campana extractora, poniendo el vaso de precipitado en un agitador magnético con una sonda para medir la conductancia y un tubo que proporcionaba un flujo constante de N₂. A continuación, se fue añadiendo de 0,25 mL a 1 mL de NaOH, dependiendo de la conductancia de la disolución. Durante el proceso de añadir el NaOH, la conductancia tuvo 3 tendencias. Primero descendió, después se mantuvo constante y finalmente, empezó a ascender. Una vez vistas esas tres fases, que en este caso fueron unos 25 mL de NaOH añadidos, se cogieron todos los datos y se procedió a calcular los volúmenes mediante gráficas (ver anexo J). Finalmente, se determinó el grupo de carboxilos mediante la ecuación 3.

8.2.3.6. Permeancia al aire

La permeancia al aire es una propiedad barrera que mide la permeabilidad al aire que tiene el film. Este ensayo no destructivo, se hizo mediante dos equipos diferentes: el BENDTSEN y el BEKK.

BENDTSEN

El método que se utilizó para calcular la permeabilidad, consistía en poner el film entre una placa de vidrio y una pieza circular del propio equipo, por donde corría el flujo de aire. Mediante la fuerza manual que se aplicó en la palanca del equipo, la máquina mostraba el caudal que pasaba por la muestra.

BEKK

En el ensayo de permeancia al aire, solo se necesitó colocar el film en el círculo de cristal que se encuentra en el equipo, poniendo el cabezal correspondiente a la permeancia al aire. Después, se cambiaron los parámetros de voltaje e incremento de presión por 1/10 V y $\Delta P = 50,66 \rightarrow 29,33 \text{ kPa}$. Y finalmente, se realizó varias veces la medida para obtener un resultado más exacto.

8.2.3.7. Permeancia al O₂

La permeancia al aire es una propiedad barrera que mide la permeabilidad al O₂ que tiene el film. El equipo utilizado es el sistema de pruebas WVTR, que calcula la permeabilidad haciendo el vacío a la muestra mediante N₂. A su vez,

la màquina injecta O_2 per un lado del film y mide cada 10 min la cantidad de oxígeno que ha conseguido atravesarlo.

Para poder introducir el film, se tuvo que poner en una mask con la forma de la plantilla específica del equipo. A continuación, se reguló el O_2 y N_2 a 32 - 33 bares y se introdujeron en la máquina el nombre de la muestra, la humedad ensayada en el N_2 y O_2 , el espesor del film, un área de 5 cm^2 , una temperatura de $23\text{ }^\circ\text{C}$, el modo test continuo con un Exam time de 10 min, un programa de Get a New Zero y una concentración de oxígeno del 100 %. Después, se inició el programa. Tras acabar, se traspasaron todos los datos al ordenador obteniendo el resultado final.

8.2.3.8. Water Drop Test

El Water Drop test, es un método destructivo que mide el tiempo que tarda el film en absorber completamente una gota de agua. En caso de que sea un film con un grado de hidrofobicidad alto, nunca se absorbería del todo la gota y acabaría evaporándose por la temperatura ambiente.

El ensayo consistió en poner un trozo de muestra encima de una goma (ver figura 32), a una distancia de 2,5 cm de una jeringuilla estática (ver figura 33). Esta se accionó para depositar una sola gota de agua. En el momento que la gota tocó el film, se empezó a cronometrar hasta que la gota de agua quedó completamente absorbida.

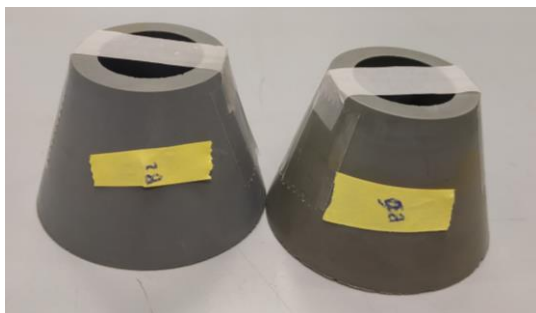


Figura 33. Films preparados para el ensayo de WDT

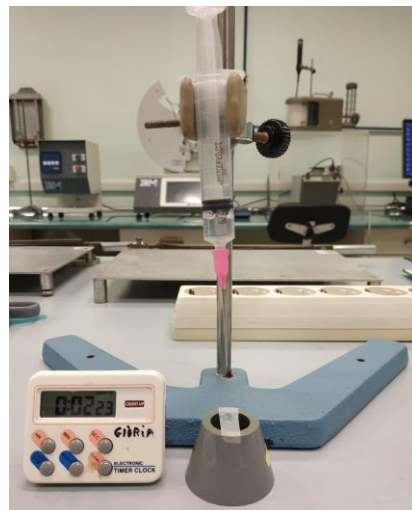


Figura 32. Ensayo de Water Drop Test

8.2.3.9. Resistencia en húmedo

La resistencia en húmedo es una prueba sencilla y visual de realizar. Este ensayo destructivo es una propiedad barrera que mide el tiempo que tarda en destruirse completamente el film sumergido en agua.

El ensayo consistió en poner una muestra en un vaso de precipitado de 250 mL con 200 mL de agua. Una vez se inició la agitación magnética, se cronometró el ensayo. Finalmente, cuando la muestra quedó completamente destruida, se apuntó el tiempo cronometrado.



Figura 34. Resultado del ensayo de resistencia en húmedo.

El film oxidado (derecha) no se ha descompuesto. El film control (izquierda), está completamente despedazado.

8.2.3.10. Absorbancia

La absorbancia es una propiedad óptica que indica la cantidad de luz absorbida por la muestra según la longitud de onda que incide en ella. Este ensayo no destructivo, se realiza con el espectrofotómetro UV. Para analizar la muestra, se utilizó una cubeta de cuarzo de 3,4 x 0,8 cm, ya que este material no interactúa con la luz. Una vez cortada la muestra con las medidas de la cubeta, se inició el programa seleccionando una longitud de onda de 200 nm a 900 nm (todo el espectro posible a medir). Finalmente, se obtuvieron los resultados.

8.2.3.11. Transparencia

Como se ha explicado en el apartado 8.2.2.2, la transparencia es una propiedad óptica que se calcula a través de la transmitancia (inversa de la absorción).

Para poder analizar la muestra, se utilizó una cubeta de cuarzo y un trozo de film, a diferencia del ensayo de transparencia para una muestra suspendida. El resto de experimentación y cálculos fueron los mismos que en el apartado 8.2.2.2.

8.2.3.12. Blancura

La blancura ISO es una propiedad óptica que relaciona entre la radiación reflejada por un cuerpo y la de un difusor completamente opaco, a una longitud

de onda efectiva de 457 nm con un refractómetro (Junyent Blanco, 2017). Este ensayo no destructivo viene dado por la norma ISO - 3688.

Para medir la blancura ISO, se utilizó el espectrofotómetro abreviado de reflectancia. Se utilizaron diferentes colores de fondo (amarillo, verde, azul y rojo), a parte del blanco y negro que vienen incluidos en el equipo. Para analizar la muestra, solo se tuvo que colocar el film entre la base y el foco de luz. Una vez este estuvo bien colocado, cubriendo toda la lente del equipo, se procedió accionar el mecanismo para juntar la base con el film contra el cristal del foco. Finalmente, cada muestra fue medida por ambas caras.

8.2.3.13 Densidad óptica

La densidad óptica es una propiedad óptica que mide el grado de oscuridad de un material semitransparente. Este ensayo no destructivo se realizó con diferentes fondos de colores (blanco, amarillo, verde, azul y rojo) y con el densitómetro.

Para medir la densidad óptica, se cogió el film y se puso entre el fondo correspondiente y el lector del equipo. Esto se realizó con todos los diferentes fondos de colores.

8.2.3.14 Envejecimiento

El envejecimiento es la degradación de las fibras sometidas a condiciones específicas. Esto puede ser a causa de la presencia de grupos carbonilos. Cuando las fibras se han degradado mucho, se pueden identificar fácilmente por su color amarillento.

En este ensayo destructivo, se utilizaron dos tamaños diferentes de film. En ambas pruebas, se utilizó la cámara climática con una humedad de 65 %, una temperatura de 80 °C y un tiempo total de 7 días.

Trozo de film

A causa de la escasez de muestras, se utilizó un 1/4 de film. Para poder sujetarlo dentro de la cámara climática, se usó una gradilla de metal donde se enganchó con cinta adhesiva como se muestra en la figura 35. Una vez colocada la muestra, se fotografió y se metió en la estufa con las condiciones mencionadas anteriormente. Al terminar el ensayo, se comparó el antes y después del film.

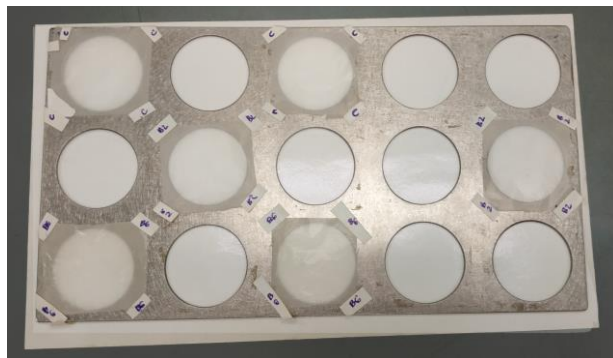
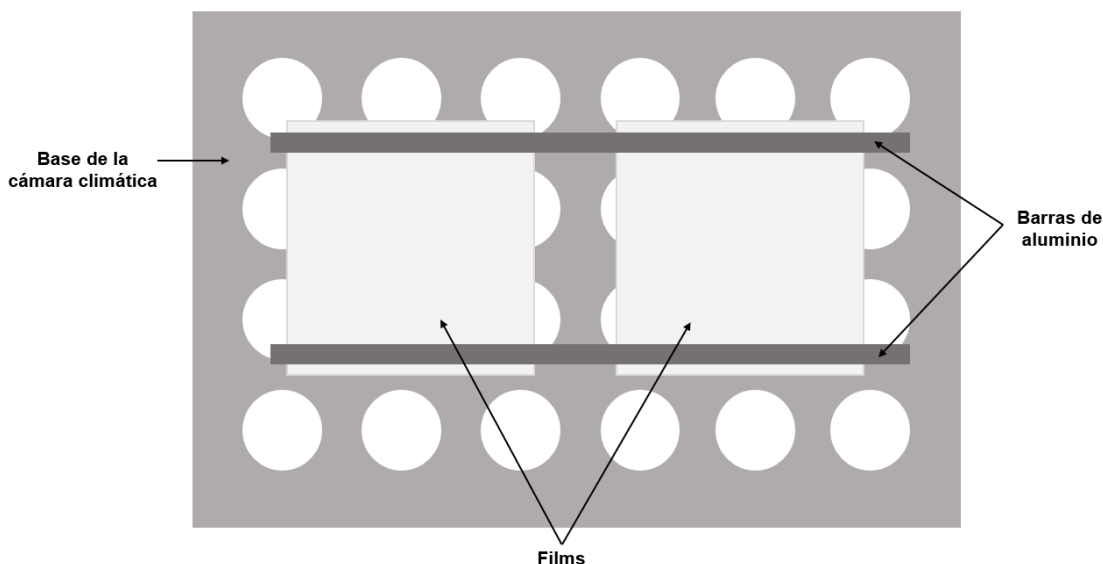


Figura 35. Films preparados para poner en la cámara climática

Film entero

Primero, se fotografió la muestra. Después, Se utilizó la cámara climática para envejecer el film. Para que la muestra quedara bien sujeta, se utilizaron 2 varillas de acero, poniéndolas en los bordes del film (ver en esquema 3). Una vez transcurrido el tiempo indicado, se comparó el antes y después del film.



Esquema 3. Montaje de los films en la cámara climática

8.2.3.15. Viscosidad intrínseca sin/con NaBH_4

La viscosidad es la propiedad de los fluidos que caracteriza su resistencia a fluir, debida al rozamiento entre sus moléculas. Esta metodología se ha explicado para muestras en suspensión en el apartado 8.2.2.1. La diferencia de metodología entre una muestra en suspensión y el film, es el lavado de NaBH_4 . La metodología de la viscosidad sin reactivo, procede de la misma manera.

Una vez pasaron las 24 h con el NaBH_4 , se lavó el film mediante filtración. Para realizar dicha filtración, se utilizó un embudo Büchner, un papel de filtro, un Kitasato y agua del grifo para crear el vacío (ver figura 37). Se roció 3 veces con

agua destilada el film, hasta quedarse completamente limpio. Una vez acabada la filtración, se depositó en un pote de plástico con 25 mL H₂O y se dejó agitando aproximadamente 24 h.

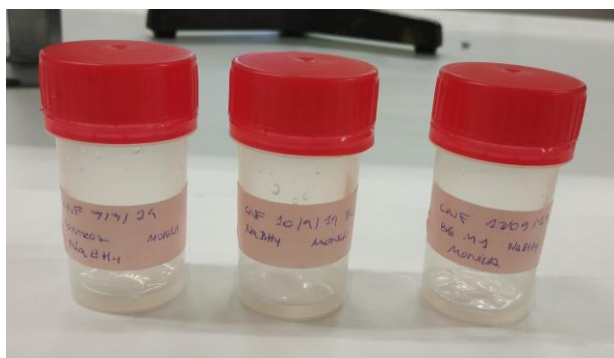


Figura 36. Muestras de films con NaBH₄



Figura 37. Filtración de los films con NaBH₄

La resta de ensayo se procedió de misma manera que con una muestra en suspensión (ver apartado 8.2.2.1).

Todos los cálculos del NaBH₄ se encuentran en el anexo C.

8.2.3.16. Funcionalización con Ag

Como se ha mencionado anteriormente, el objetivo principal del estudio es funcionalizar los biofilms de NFC oxidados con ozono. Una manera de verificar que la NFC ha sido oxidada formando grupos carboxilos, es utilizando iones de metales. El ensayo que se decidió realizar se basa en el artículo “Laccase/TEMPO-mediated bacterial cellulose functionalization: production of paper-silver nanoparticles camposite with antimicrobial activity” (Morena et al., 2019), utilizando iones de plata para conseguir una nueva funcionalización. Este ensayo se hizo con dos concentraciones diferentes de AgNO₃: 0,1 mM y 10 mM.

El experimento consistió en coger 1/2 del film y sumergirla en AgNO₃ durante 24 horas a oscuras (ver figura 38), tapándose con film de plata. Una vez transcurrido el tiempo, se lavó con el método de filtración que se explica en el apartado anterior (8.2.3.15). Después de lavarse, se selló la plata con calor, utilizando el formador de hojas durante 20 min. Para finalizar, se dejó secar en una placa Petri en la cámara aclimatada (ver figura 39).



Figura 38. Film sumergido en AgNO_3



Figura 39. Film tratado con AgNO_3 una vez secado

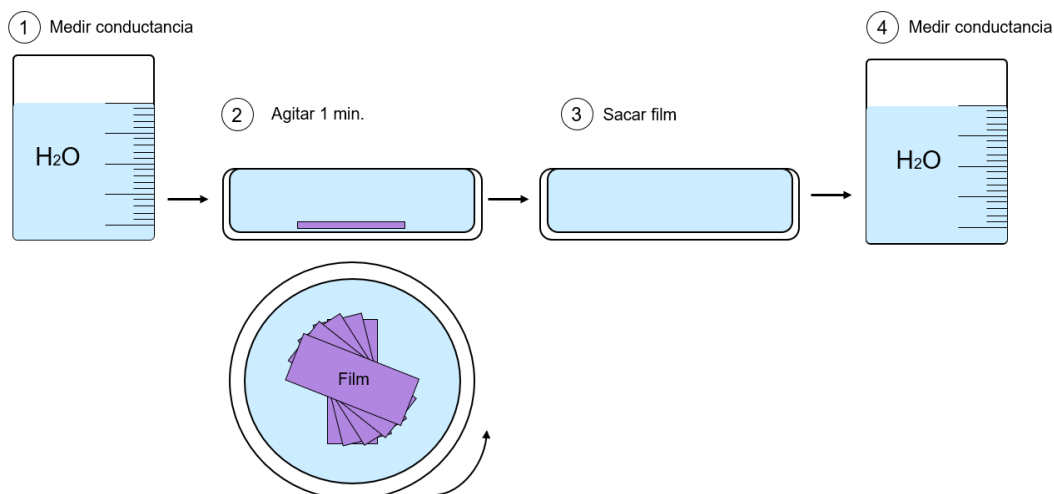
Los ensayos que se realizaron para comprobar que el ion de plata realmente se había adherido a la estructura de la nanocelulosa fueron tres: Leaching, Conductividad del film, y la absorbancia previamente descrita.

Leaching

El Leaching es un proceso en el que los valores metálicos de un material sólido portador de metal se transfieren a una solución acuosa por la acción de un lixiviante, líquido para extraer el metal deseado (Comprehensive Coordination Chemistry II, 2003).

En este ensayo, el leaching se utilizó para transferir el exceso de plata de la superficie del film al agua. Al transferir el metal al agua, se pudo medir su conductividad.

El ensayo prosiguió de la siguiente forma. Primero, se midió la conductancia de 80 mL de H_2O . En una placa Petri con la muestra AgNO_3 , se vertió el agua. Se agitó durante 1 min moviendo concéntricamente el recipiente de manera manual, evitando que se saliera el agua. A continuación, se extrajo el film, guardándolo en otra placa Petri. Finalmente, se prosiguió a medir por segunda vez, la conductancia del agua (ver esquema 4). Este proceso se hizo una vez más.



Esquema 4. Ensayo de leaching

Conductividad film

Una manera de medir la conductividad de un objeto, es haciendo pasar corriente a través de él, y midiéndolo con un voltímetro. En este caso, no se ha podido medir de esta manera, ya que para que la corriente consiguiera pasar a través del film, se hubiera necesitado una continuidad en la plata. Al bañarlo en AgNO_3 , la plata se engancha de forma irregular en todo el film obteniendo una discontinuidad entre partículas.

Una opción que se contempló, fue el siguiente ensayo.

Con un vaso precipitado de 250 mL, se introdujo 200 mL de H_2O y se midió su conductancia. Después, se añadió el film AgNO_3 y se agitó magnéticamente. Una vez transcurrido 1 min, se volvió a medir la conductividad con el film en el interior del recipiente.

9. Resultados

Como se mencionó anteriormente en el apartado 7.3.2, la obtención de un film con NFC oxidada es algo completamente nuevo. El primer mes se tuvo que probar diferentes tratamientos de ozono y métodos para conseguir que la muestra de NFC consiguiera oxidarse lo máximo posible. Después, se tuvo que pensar cómo hacer la metodología de los diferentes ensayos, puesto que, todos los ensayos están pensados para celulosa. La mayoría de ensayos realizados en fibras de celulosa requieren de un lavado de la pasta, que se hace mediante filtración. El problema de la nanocelulosa es que no se puede lavar mediante filtración ya que las fibras nanométricas pasarían a través de los filtros. Así, se tuvieron que investigar nuevas metodologías de lavado.

Finalmente, para poder analizar los resultados, se tuvieron que comparar con las propias muestras de NFC sin ser oxidada, ya que, ahora mismo no se dispone de más información acerca de la oxidación de la nanocelulosa con ozono.

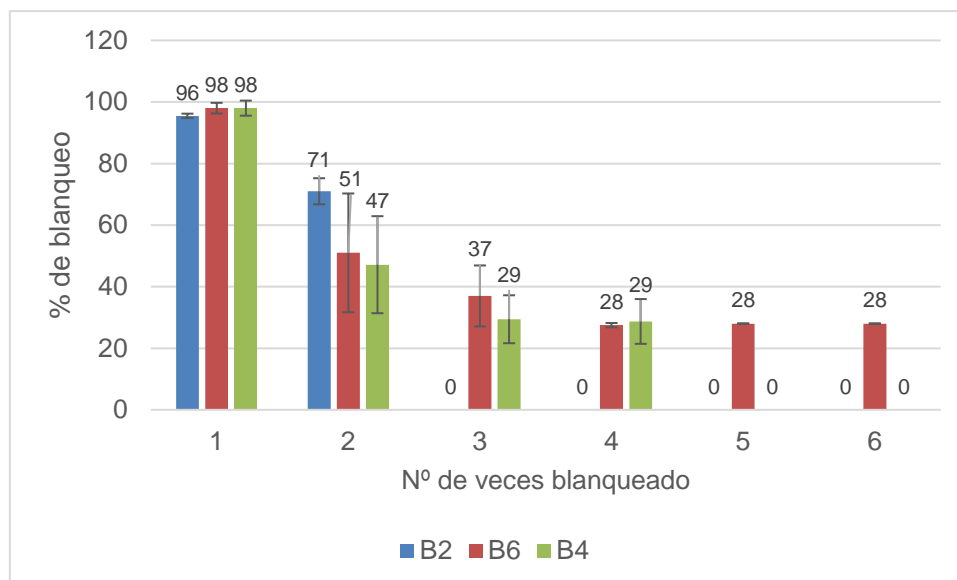
Para poder compararse entre ellos, se ha hecho la media y la desviación según el número de veces que se ha aplicado el tratamiento de ozono a las muestras y la cantidad de NFC en seco que lleva cada muestra. A continuación, se muestran los resultados que se han dividido en los siguientes subapartados: tratamiento de ozono, efecto del ozono en el rendimiento en NFC y la longitud de fibras, propiedades físico-mecánicas, propiedades ópticas, propiedades barrera, estudio del efecto del ozono en la creación de grupos funcionales y funcionalización con Ag.

9.1. Tratamiento de ozono

El objetivo del trabajo era oxidar el máximo posible la nanocelulosa. En trabajos anteriores (Junyent Blanco, 2017; Romera, 2016) se observó que la dosis de 0.5% era dónde se obtenía la mayor oxidación del ozono. A mayor dosis, llegaba un punto que el ozono inyectado no era capaz de reaccionar con la pasta. En el *“Estudi de l'efecte de diferents pre-tractaments químics, mecànics i biotecnològics en l'oxidació de fibres cel·lulòsiques mitjançant ozó”* (Junyent Blanco, 2017) obtuvieron que era posible aumentar esta oxidación realizando un lavado de la pasta y volver a oxidar a la misma dosis. En este trabajo, debido a que partíamos de nanocelulosa, el lavado no se podía realizar de la forma convencional. Para ello, se decidió realizar varios tratamientos consecutivos a la dosis de 0,5%, sin llegar a lavar la NFC entremedio. Se realizaron tres pruebas, una con dos etapas de blanqueo (B2), una con 4 (B4) y una con 6 (B6). También se evaluó si afectaba sacar el balón entremedio de las etapas (ver anexo D). Como se observa en la tabla 3, el porcentaje de blanqueo disminuía a medida que aumentaban las etapas de blanqueo. En el tratamiento B6, se observa que a partir del cuarto tratamiento, el porcentaje de blanqueo se mantenía. Así, se decidió estudiar más acuradamente el tratamiento B4, obteniendo más réplicas de éste. De esta manera, se utilizaba menos recursos y tiempo, para el mismo porcentaje de blanqueo.

Número de veces blanqueada	% de blanqueo					
	1	2	3	4	5	6
NFC B2	95,5 ± 0,7	71,0 ± 4,2	-	-	-	-
NFC B4	98,0 ± 2,4	47,1 ± 15,8	29,4 ± 7,8	28,7 ± 7,3	-	-
NFC B6	98,0 ± 1,7	51,0 ± 19,3	37,0 ± 9,9	27,5 ± 0,7	28,0 ± 0	28,0 ± 0

Tabla 3. Resultados de blanqueo de la NFC



Gràfica 1. Resultados de blanqueo de las muestras B2, B4 y B6

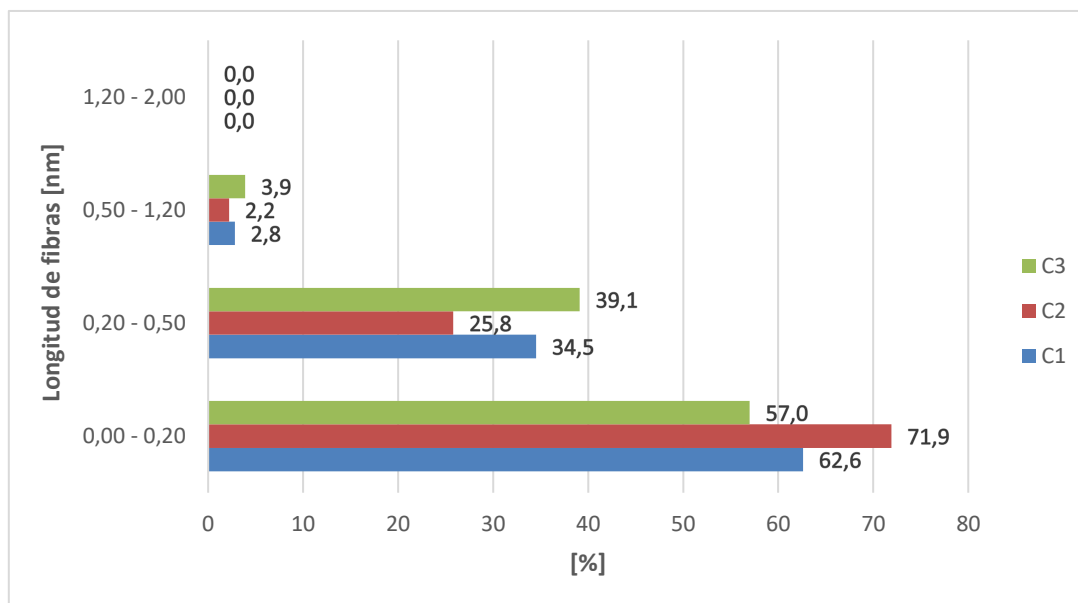
En la gràfica 1, se puede ver también la tendencia a disminuir rápidamente el % de blanqueo respecto el número de veces aplicado el tratamiento. Esto puede deberse a que, llega un punto en que la pasta se satura de ozono, y éste deja de reaccionar con la NFC.

Para ver más resultados ver anexo D.

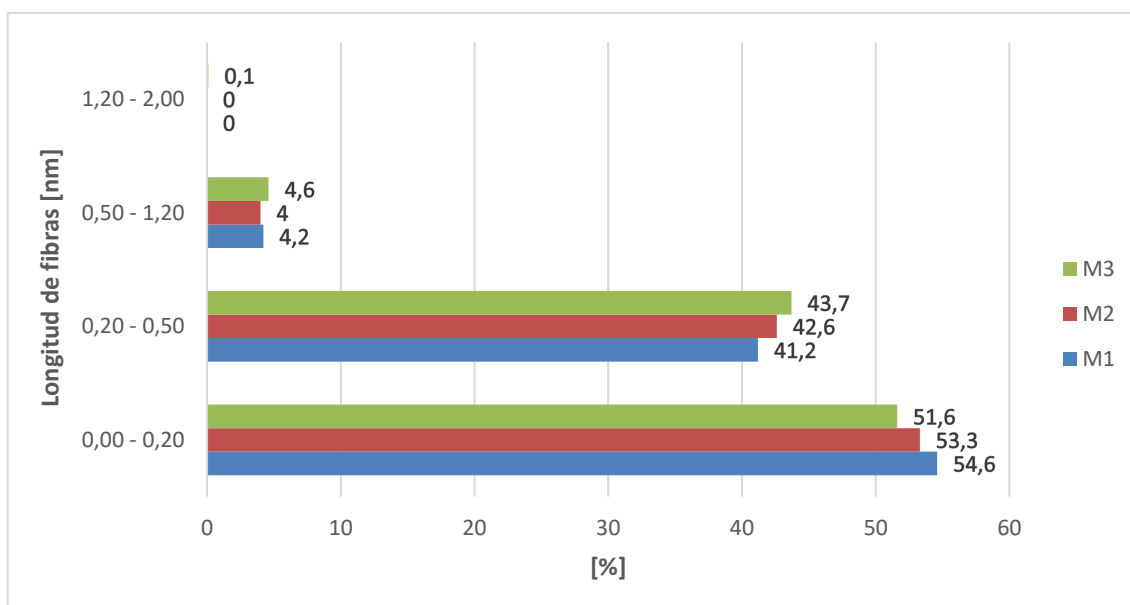
9.2. Efecto del ozono en el rendimiento en NFC y en la longitud de las fibras

Primeramente, se analizó si el ozono afectaba el rendimiento en NFC y si afectaba a la longitud de las fibras presentes en la muestra que no son NFC. Después de calcular el rendimiento, se obtuvo un porcentaje de fibras finas del 91-94%, y un rendimiento en NFC del 6-9%. Los resultados rondan el 10 % de NFC que contenían las muestras. Se puede dar por válido que la oxidación con ozono, no afecta a la NFC.

Una vez demostrado que el tratamiento con ozono no afecta al contenido en nanocelulosa, se realizó un análisis de la composición de las fibras que no son nanocelulosa (un 90 % de la muestra). Como se muestran en la gràfica 2, el control presenta mayor cantidad de fibras más cortas (entre 0 y 0,2 mm). Si se comparan las gràficas 2 y 3, se puede observar que en el B4, en cada fracción poblacional tiene más fibras que el Control, exceptuando de 0 a 0,2 mm.



Gràfica 3. Fracció poblacional del control (3 rèpliques)



Gràfica 2. Fracció poblacional del B4 (3 rèpliques)

9.3. Propiedades físico-mecánicas

Como se muestra en la tabla 4, se puede considerar que el espesor de los films, sin importar su tratamiento aplicado de ozono, se mantiene alrededor de los 20 μm , en caso de la muestra de 0,157 g de NFC, y de los 37 μm , en caso de la muestra de 0,314 g de NFC.

Muestra	Espesor [μm]	Gramaje [g/m ²]	Resistencia en seco [kN/m]	Resistencia en húmedo [kN/m]
Control (0,157 g)	21,3 ± 2,0	15,8 ± 0,5	-	-
B2 (0,157 g)	19,9 ± 2,4	13,0 ± 0	-	-
B4 (0,157 g)	20,4 ± 2,0	15,6 ± 1,1	-	-
B6 (0,157 g)	19,5 ± 1,1	13,9 ± 0		
Control (0,314 g)	36,7 ± 2,6	35,5 ± 0,8	2,9 ± 0,4	-
B4 (0,314 g)	37,1 ± 2,2	35,2 ± 1,4	3,4 ± 0,4	-

Tabla 4. Resultados de las propiedades físico-mecánicas de las muestras (Control, B2, B4 y B6)

El gramaje es un factor muy importante en la industria papelera. Como se observa en la tabla 4, los controles tuvieron un gramaje similar a los B4. Esto puede deberse a la cantidad de réplicas de las muestras que se han hecho. Esto ayuda a poder hacer una mejor valoración de los resultados. Ver más resultados en el anexo H.

Otra propiedad que se midió, fue la mecánica. La razón por la cual no se obtuvieron resultados de la resistencia en húmedo fue porque el film era débil y difícil de manipular. Cada vez que se intentaba colocar una muestra en la máquina de ensayos universales, este se rompía. A causa de eso, todas las muestras disponibles de B2, B6 y B4 de 0,157 g de NFC se utilizaron para conseguir obtener un resultado de resistencia en húmedo. En el caso de la resistencia en seco, se puede observar que el B4 tenía una resistencia ligeramente superior al control.

9.4. Propiedades ópticas

Las propiedades ópticas se analizaron tanto a nivel de blancura de los films como de transparencia (de los films y de la suspensión) y se realizó un espectro de absorbancia tanto en film como en suspensión.

La propiedad óptica de la blancura ha sido uno de los ensayos que más se ha realizado, utilizando varios fondos como se explica en el apartado 8.2.3.12.

Como se muestra en la siguiente tabla, se han escogido solo los valores con fondo blanco y negro, ya que son los estandarizados por la Blancura ISO.

Al tratarse de unas fibras que previamente habían sido blanqueadas, el ozono no produce cambios significativos en la blancura con el fondo blanco. Otra manera de demostrar el blanqueo con el ozono, se puede observar con el valor de blancura con fondo negro. Cuando más pequeño es el valor, más blanco es.

Muestra	Blancura	
	Blanco [%]	Negro [%]
Control (0,157 g)	$76,7 \pm 0,1$	$19,0 \pm 1,3$
B2 (0,157 g)	$77,3 \pm 0,0$	$19,7 \pm 0,0$
B4 (0,157 g)	$77,1 \pm 0,0$	$17,5 \pm 0,1$
B6 (0,157 g)	$76,0 \pm 0,0$	$22,5 \pm 0,0$

Tabla 5. Resultados del ensayo de blancura con fondo blanco y negro de las muestras Control, B2, B4 y B6

Aunque los valores de blancura no lo cuantifican (al tratarse de films transparentes), visualmente si se observaba una pequeña diferencia en los films oxidados. Como se observa en la figura 40, el Control (film de la izquierda) es ligeramente más transparente que el oxidado (film de la derecha). También se puede distinguir mayor blancura en el film oxidado. Para poder demostrarlo se realizaron ensayos de transparencia.

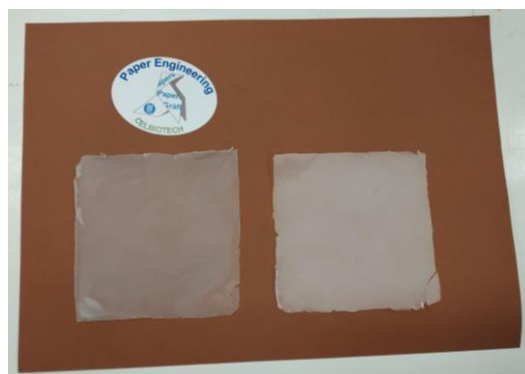


Figura 40. Films envejecidos

En la izquierda de la imagen tenemos el film Control envejecido. En la derecha de la imagen tenemos el film B4 envejecido.

Para ver más resultados del ensayo de blancura ver el anexo N.

La transparencia es una propiedad que se puede evaluar de manera visual. Para poder darle valor a esta propiedad, se utilizó el ensayo de transparencia, explicado en el apartado 8.2.2.2 para muestras en suspensión y apartado 8.2.3.11 para films. Como se muestra en la tabla 6, los resultados de transparencia de las muestras no varían considerablemente. El único a destacar, es el B2, ya que el valor se dispara. Esto puede ser debido a que el valor cogido fue erróneo. Los resultados de transparencia se esperaban superiores en los controles, que en los oxidados. Esto es debido a que los films oxidados parecían ser más opacos que los controles como se ha mencionado anteriormente.

Para acabar, en la misma tabla de los resultados de transparencia, se observa que el control en suspensión sí que cumple las expectativas de ser más transparente que el B4.

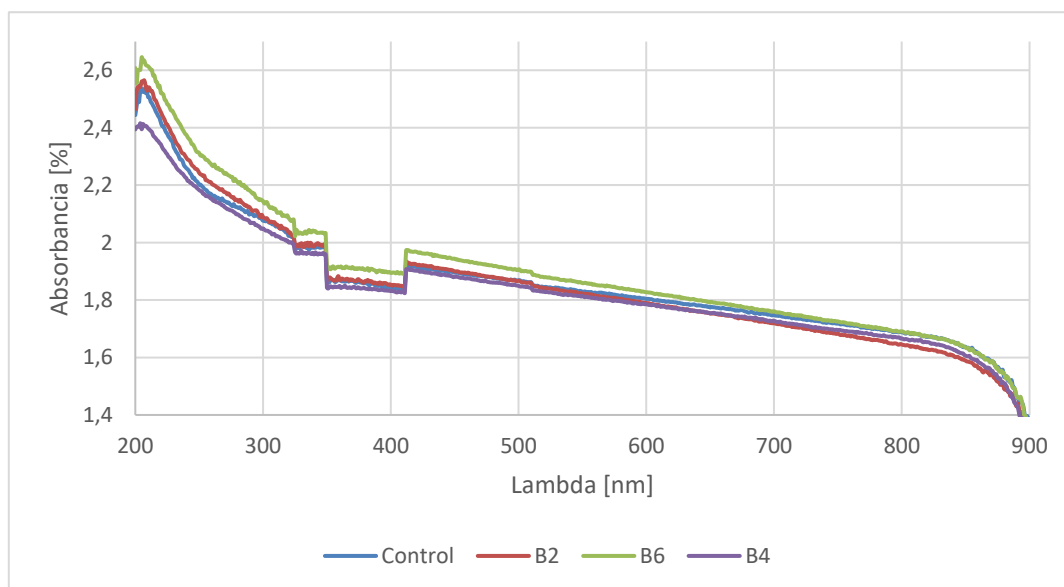
Muestra	Transparencia [%/mm]
Control (0,157 g)	9,47
B2 (0,157 g)	17,79
B6 (0,157 g)	9,76
B4 (0,157 g)	10,65 ± 1,35
Control 0,1 % (suspensió)	10,56
B4 0,1 % (suspensió)	9,00

Tabla 6. Resultados del ensayo de transparencia de las muestras control, B2, B4 y B6

Para ver más resultados sobre el ensayo de transparencia, ver en el anexo F. Los valores de absorbancia fueron evaluados en el rango de 200 nm a 900 nm, analizando la luz visible y la luz ultravioleta.

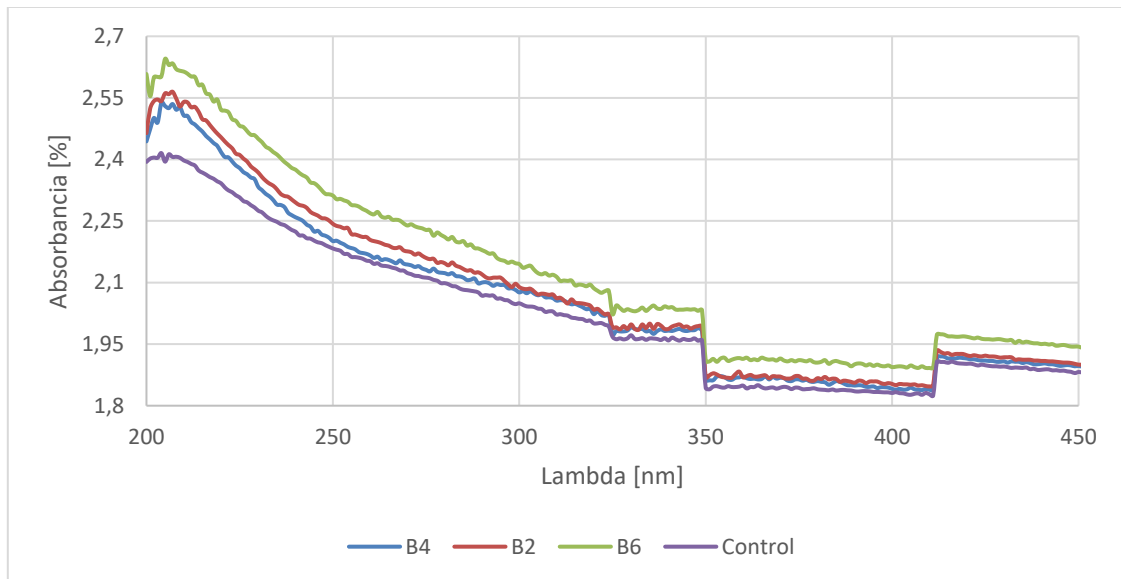
La absorbancia indicará si las muestras son mejores protegiendo un producto de una longitud de onda específica del espectro de luz. Para analizar este efecto, se hicieron diferentes gráficos, obtenidos por el espectrofotómetro.

En el primer gráfico, se muestra el espectro de las diferentes dosis de ozono con el control. Se puede observar que todas hacen un dibujo similar, pero, cada muestra tiene unos valores de absorbancia superiores a las otras.



Gráfica 4. Espectro de absorbancia de las muestras Control, B2, B4 y B6

Para poder analizar mejor los resultados anteriores de la gráfica, se ha ampliado en el rango de 200 nm a 450 nm dicha gráfica.



Gràfica 5. Espectro de absorbancia de las muestras control, B2, B4 y B6 (ampliación 200 - 450 nm)

Como se muestra en la gráfica 5, la B6 que ha sido oxidada más veces muestra una mayor absorción en todo el rango, lo que indica que es menos transparente. A continuación, vienen el B2 y luego el B4, teniendo el menor valor de absorción el control.

9.5. Propiedades barrera

Al principio de la experimentación, se midió la permeabilidad al aire con el equipo BENDTSEN, haciendo un total de 24 mediciones por muestra (ver anexo K). Después de ver la variabilidad que había en los resultados, ya que este equipo dependía de la fuerza que se aplicaba en cada medida. Se decidió utilizar el equipo BEKK, midiendo siempre la parte rugosa del film.

Muestra	Permeabilidad al Aire [s] BEKK
Control (0,157 g)	565,1 ± 50
B4 (0,157 g)	640,3 ± 70
Control (0,314 g)	324,0 ± 18
B4 (0,314 g)	317,5 ± 17

Tabla 7. Resultados del ensayo de permeabilidad al aire (BEKK) con las muestras control y B4

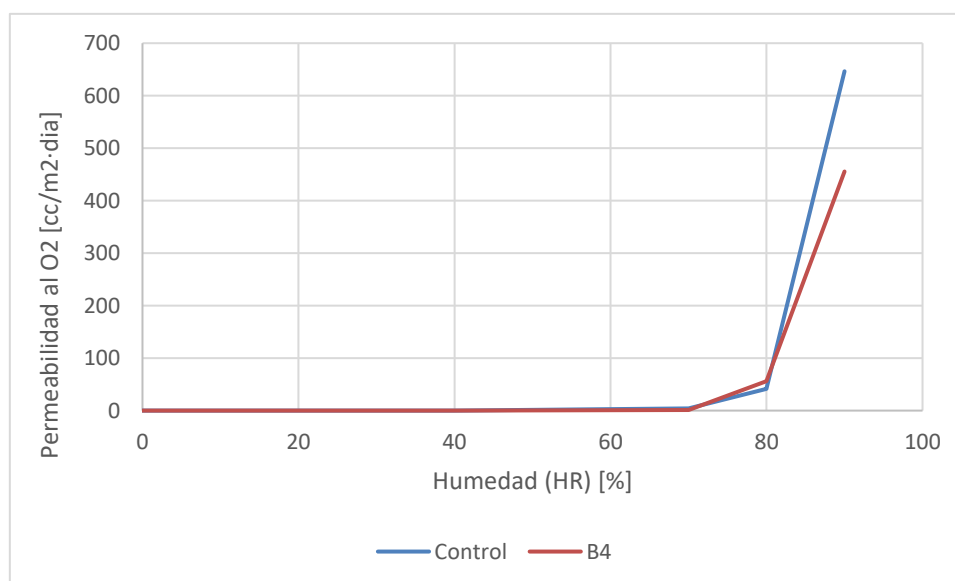
Como se observa en la tabla 7, la permeabilidad al aire era superior cuando mayor cantidad de muestra había, es decir, mayor espesor tenía el film. Tanto el control como el B4, agrupados por gramos de muestra, tienen valores similares. Esto se puede deber a la gran desviación que tienen los resultados. Para ver más resultados, ver anexo K.

Otra prueba de propiedad barrera es la permeancia al O₂. Como se observa en la tabla 8, tanto el control como el B4 no dejaron pasar el oxígeno con una humedad (HR%) de 0 % y 40 %. Con una humedad de 70 %, se puede considerar que ambas muestras tampoco dejaron pasar el oxígeno, ya que sus valores son cercanos al 0. Finalmente, el valor más destacado a tener en cuenta es el de HR% 90. Se ve claramente que el B4 tiene un valor inferior al control. Esto indica que la oxidación con ozono mejora la permeabilidad al O₂, lo que es un hecho muy importante y de gran novedad ya que se demuestra por primera vez que la nanocelulosa oxidada con ozono puede aumentar la propiedad barrera al oxígeno.

Muestra	Permeabilidad al O ₂ [cc/m ² ·dia]				
	HR% 0	HR% 40	HR% 70	HR% 80	HR% 90
*Control (0,157 g)	0	0	3,90	41,20	646,48
B4 (0,157 g)	0	0	1,41	55,84	455,50

Tabla 8. Resultados del ensayo de permeabilidad al oxígeno con las muestras control y B4

*Todos los resultados del control de permeabilidad al oxígeno han sido proporcionados por la doctoranda Júlia Fernández.



Gráfica 6. Comparación de la permeabilidad al oxígeno de las muestras control y B4

Para ver más resultados del ensayo de permeabilidad al O₂, ver el anexo L.

El ensayo de resistencia en húmedo surgió mientras se estaba haciendo el ensayo de funcionalización de plata. Se observó que el control, una vez pasados pocos minutos en el agua, se empezaba a despedazar a diferencia del B4.

Las muestras que se utilizaron para hacer este ensayo fueron previamente envejecidas con una humedad de 65 %, una temperatura de 80 °C y un tiempo total de 7 días. En la tabla 9, se muestra el tiempo que tardó en deshacerse completamente el film una vez sumergido en agua con agitación.

Muestra	Resistencia en húmedo [min]
Control (0,314 g)	5
B4 (0,314 g)	120

Tabla 9. Resultados del ensayo de resistencia en húmedo de las muestras control y B4

Como se menciona anteriormente, hay una gran mejora respecto la resistencia en húmedo del film tratado con ozono. Es una gran mejora, ya que, el B4 duró 24 veces más en el agua que el control (ver figura 41).



Figura 41. Resultados del ensayo de resistencia en húmedo

En la izquierda de la imagen, se muestra el film B4 entero. En la derecha, se observa el control completamente desintegrado.

Finalmente, los resultados de los ensayos de WDT no se han mostrado ya que, dieron valores muy dispares entre muestra y muestra (ver resultados en el anexo M). Se consideró que el ensayo no fue conclusivo, pudiendo tener algún error de metodología al realizarlo.

9.6. Estudio del efecto del ozono en la creación de grupos funcionales

La presencia en grupos funcionales se cuantificó mediante varios métodos. Primeramente, se determinaron los grupos carboxilo y aldehído. Seguidamente, se evaluó la presencia de grupos carbonilo mediante la viscosidad y finalmente se analizó el comportamiento de los films durante el envejecimiento acelerado.

9.6.1. Aldehídos y carboxilos

Los grupos funcionales creados por el ozono pueden ser del tipo carbonilo (aldehído o cetona) o bien carboxilo. Debido que para la medida de los grupos cetona el reactivo usado es muy tóxico, sólo se analizaron los grupos aldehído y carboxilo.

A partir de los ensayos de aldehídos y carboxilos, se calcularon los μmoles de grupos aldehídos y los $\mu\text{moles/g ps}$ de grupos carboxilos.

Muestra	Grupos aldehídos [μmol]	Grupos carboxilos [$\mu\text{mol/g ps}$]
Control (0,157 g)	397 ± 32	310 ± 68
B4 (0,157 g)	488 ± 34	234 ± 38

Tabla 10. Resultados del ensayo de aldehídos y carboxilos de las muestras control y B4

Como se observa en la tabla 10, el control tiene menor cantidad de aldehídos. Como el B4 ha sido oxidado con ozono, este tiende a crear más grupos aldehídos, como se explica en el apartado 7.3.1. Otra observación, es que los grupos carboxilos son inferiores en el B4 que en el control. Como menciona Buchert et al. (1995), la cantidad de COOH se reduce al oxidar con ozono. Para ver más resultados sobre los ensayos de aldehídos y carboxilos, ver en los anexos I y J.

9.6.2. Viscosidad intrínseca

La viscosidad nos da una medida del grado de polimerización de la celulosa. Cuanto más degradada está la celulosa, menor será su viscosidad.

La viscosidad fue una de las primeras pruebas que se hizo en la experimentación. Esta se hizo con muestras en suspensión, obteniendo una serie de resultados contradictorios a la teoría (ver anexo E). Esto se podía deber a que, durante el proceso de lavado de ozono se perdía demasiada muestra, y el peso seco introducido durante la medida no era el real. Después de ese intento, se decidió probar el ensayo con films. Los resultados obtenidos fueron los de la tabla 11.

Muestra	V media [mL/g]	V media con NaBH ₄ [mL/g]
Control (0,157 g)	719,8	734,6
B2 (0,157 g)	530,5	530,5
B4 (0,157 g)	$425,9 \pm 26,8$	$492,4 \pm 67,2$
B6 (0,157 g)	389,1	517,7

Tabla 11. Resultados del ensayo de viscosidad intrínseca con/sin NaBH₄ de las muestras control B2, B4 y B6

Según la teoría, cuanto más oxidada estaba la muestra, menos viscosidad debería tener a causa de su degradación. Como se observa en la tabla 11, de la columna de V media, la viscosidad disminuye en función de la cantidad de veces

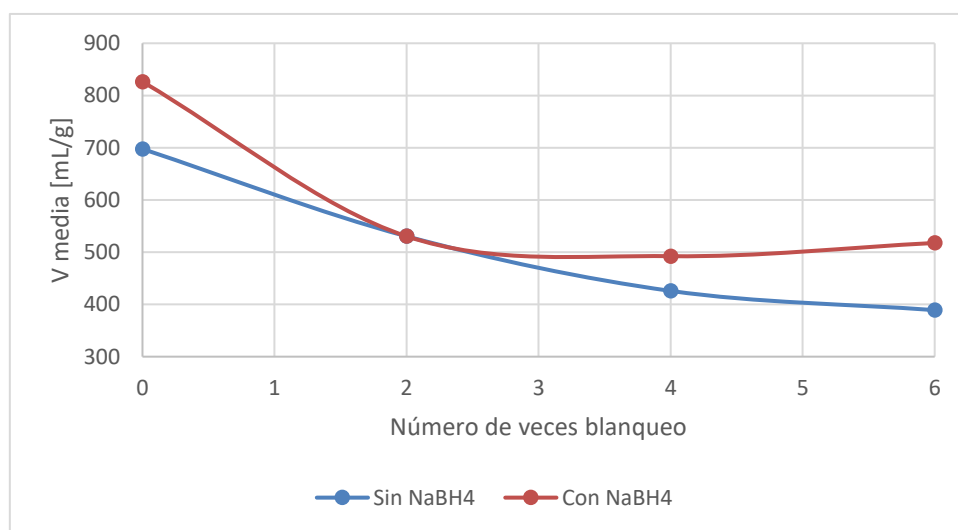
aplicadas el tratamiento de ozono. Esto demuestra que se han creado grupos carbonilos, o bien que el ozono ha cortado las cadenas de celulosa.

Para poder identificar si la bajada de viscosidad es debido a la degradación de la celulosa o a la presencia de grupos carbonilo, se realizó la viscosidad después de realizar un tratamiento al borohidruro. El borohidruro reduciría los posibles grupos carbonilo presentes a grupo alcohol, produciendo un aumento en la viscosidad.

Como se puede observar, los valores del control se pueden considerar casi iguales, pudiendo afirmar que su viscosidad no ha sido afectada por el NaBH_4 . Al aplicar NaBH_4 , se ha conseguido disminuir el efecto de degradación de las fibras creando grupos alcoholes. Donde se observa la mayor mejora, es en el B6, pasando de una viscosidad media 389 mL/g a una viscosidad media de 517 mL/g.

Para acabar, se ha hecho un gráfico comparando la viscosidad media sin NaBH_4 con la viscosidad media con NaBH_4 . En la gráfica 7, se ve claramente como la viscosidad con NaBH_4 siempre es superior. En la muestra B2 puede observarse la misma viscosidad media, esto podría ser a un error de medida, ya que solo se ha hecho una réplica.

Por lo tanto, queda demostrada la presencia de grupos carbonilo en la nanocelulosa oxidada.



Gráfica 7. Comparación de viscosidad media con/sin NaBH_4 dependiendo del nº de blanqueo aplicado

Ver más resultados del ensayo de viscosidad intrínseca en el anexo E.

9.6.3. Envejecimiento

Para acabar de demostrar la presencia de grupos funcionales en la NFC oxidada con ozono, se realizó un ensayo de envejecimiento. Si el ozono aumenta la presencia de grupos carbonilo o carboxilo, aumentará su envejecimiento, ya que

està demostrat que estos grupos contribuyen al envejecimiento de los papeles. Este hecho ha sido demostrado en papeles oxidados con ozono, pero nunca con films de nanocelulosa.

En la siguiente imagen se puede observar el aspecto de los films antes y después de envejecer.

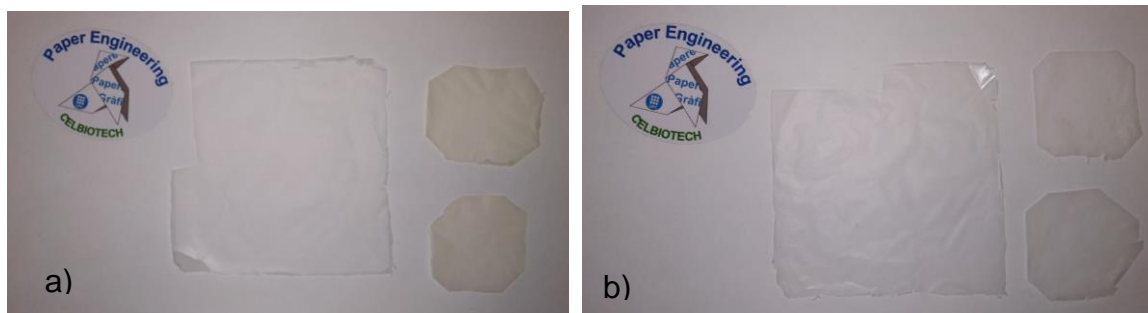


Figura 42. Films control y B4 antes y después de envejecer

a) Films B6: el film grande no ha sido envejecido. Los dos films pequeños han sido envejecidos.
 b) Films control: el film grande no ha sido envejecido. Los dos films derechos han sido envejecidos.



Figura 43. Films control y B4 envejecidos

El film de la izquierda es el control envejecido. El film de la derecha es el B4 envejecido.

Se observa claramente que los films oxidados son más oscuros que los films control.

El ensayo de blancura también sirvió para corroborar que había una diferencia visual, entre las muestras oxidadas con los controles, al aplicar el envejecimiento. Como se muestra en la tabla 12, el control tiene un valor más alto de blancura que el B4, después de haberlas envejecido.

Muestra	Blancura
	Blanco [%]
Control HR% 65 (0,314 g)	72,9
B4 HR% 65 (0,314 g)	62,1

Tabla 12. Resultados del ensayo de blancura sobre fondo blanco de las muestras control y B4 envejecidas

9.7. Funcionalización con Ag

La presencia de grupos funcionales puede servir para facilitar la unión de otros productos (como metales, productos naturales, entre otros) en la nanocelulosa para conferirle propiedades avanzadas, como las antimicrobianas, conductimétricas, etc.

En este trabajo se introdujo plata, ya que se ha demostrado que la plata aumenta las propiedades antimicrobianas (Morena et al., 2019; Errokh, Magnin, Putaux, & Boufi, 2019) y/o conductimétricas (Zhang et al., 2019), entre otras. Este análisis se realizó al final del trabajo y solo se pudo hacer una vez, teniendo solo un intento de conseguir buenos resultados.

Después de sumergir el papel en una solución de nitrato de plata, y dejarlo secar, se observó claramente que el film cambiaba de color, como se observa en las figuras 44 y 45.

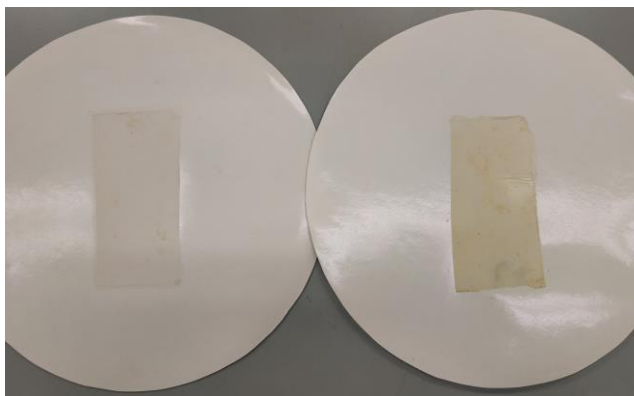


Figura 44. Films funcionalizados con plata después de sellar



Figura 45. Films funcionalizados con plata completamente secos

En la figura 44, el film izquierdo es el control, y el derecho el B4. En la figura 45, el film izquierdo es el B4, y el derecho el control.

Seguidamente, los films se sumergieron en agua destilada y se dejaron en agitación durante 1 minuto. Después, se quitó el papel del agua y se midió la cantidad de plata presente en el agua (esta plata será la que ha migrado del film al agua, es decir, plata que no está fuertemente enganchada en el film) o leaching. Como se muestra en la tabla 13, la conductividad del H₂O después del segundo lavado es 4 veces superior en el Control que en el B4. Esto puede demostrar que las partículas de plata sí que han conseguido reaccionar con los grupos carbonilo, los cuales eran superiores en la muestra oxidada evitando que la Ag se desprenda del film.

Muestra	1ra lavada		2nda lavada	
	Antes [μs]	Después [μs]	Antes [μs]	Después [μs]
Control AgNO ₃ 10 mM	1,59	4,51	1,68	8,70
B4 AgNO ₃ 10 mM	1,31	4,61	1,44	2,19

Tabla 13. Resultados del leaching de las muestras control y B4

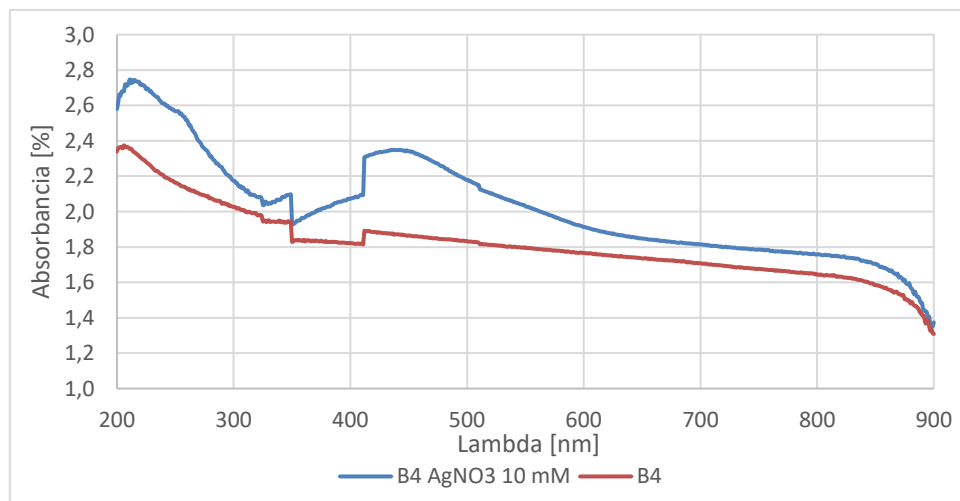
Después de medir el leaching, se intentó medir la conductancia del film mediante una solución acuosa. Los resultados obtenidos, solo fueron positivos con los films de una concentración de AgNO_3 de 0,1 mM. Como se muestra en la siguiente tabla, el valor de la conductancia era superior en el B4 que en el Control.

Muestra	Antes [μs]	Después con film [μs]	+ 1 min [μs]
Control AgNO_3 0,1 mM	1,36	2,78	3,50
B4 AgNO_3 0,1 mM	1,39	4,52	5,14
Control AgNO_3 10 mM	1,87	2,26	2,26
B4 AgNO_3 10 mM	1,70	1,84	1,84

Tabla 14. Resultados de la conductividad de las muestras control y B4 funcionalizadas con plata

A diferencia de los buenos resultados de 0,1 mM, se obtuvieron resultados poco conclusivos con los de concentración de 10 mM. Esto puede deberse a que la cantidad de agua añadida en este ensayo fue superior a la anterior (10 ml de más). También podría ser que el ensayo debe mejorarse para conseguir medir realmente la conductividad del film.

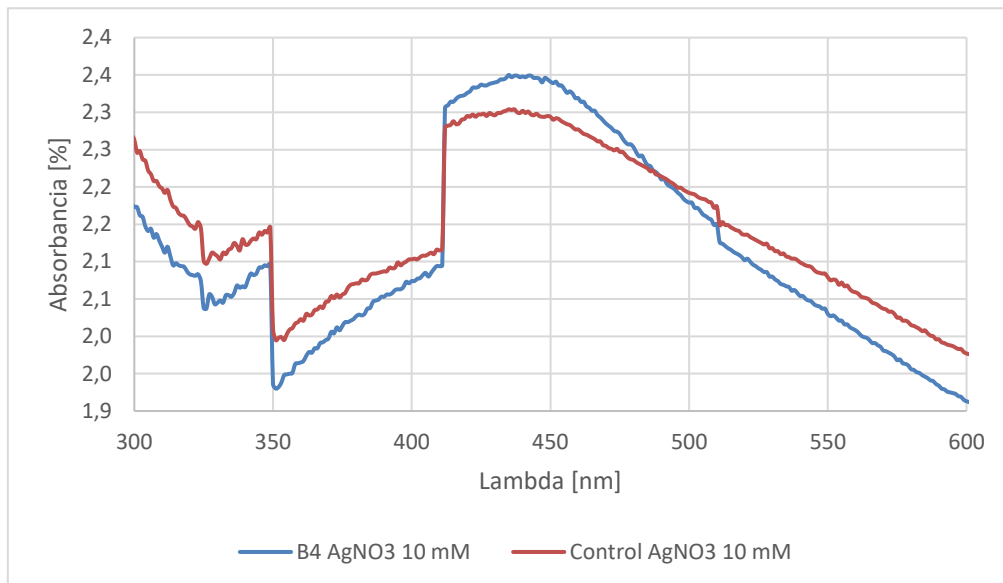
Finalmente, se realizó un espectro de absorción para demostrar si en el film oxidado con ozono había mayor presencia de plata enganchada. En la gráfica 8, se muestra la absorbancia de la B4 con plata y sin plata. En este espectro, se diferencia un gran pico entre la longitud de 400 nm y 500 nm. Esto se debe a la plata, ya que su pico máximo de absorbancia oscila entre 410 nm y 430 nm según (Hernández, Reyna, Ortiz, & Treviño, n.d.).



Gráfica 8. Espectro de absorbancia de B4 con/sin funcionalización con Ag (10 mM)

En la gráfica 9, se observa la absorbancia de las muestras B4 y Control con el ensayo de funcionalización de plata. El gráfico muestra claramente como el B4 tiene más cantidad de plata que el control. Esto ayuda a corroborar que el film se ha conseguido oxidar, ayudando a formar enlaces con la plata, a diferencia del control, que solo se deposita superficialmente. Se puede ver como el pico

máximo de absorbancia se encuentra entre los 400 nm y los 450 nm, un rango similar respecto al rango citado anteriormente.



Gráfica 9. Espectro de absorbancia de B4 con/sin funcionalización con Ag (10 mM) (ampliación)

Para reforzar los resultados de propiedades ópticas, se utilizó el densitómetro para medir las diferencias de color que se habían creado en el film B4 y Control al aplicar el tratamiento de funcionalización de plata. Los resultados se pueden ver en el anexo O.

10. Presupuesto

En este apartado, se ha hecho una estimación de los costes que se han necesitado para hacer este estudio. La inversión para la realización del estudio ha sido facilitada por el Laboratorio CELBIOTECH de la Universitat Politècnica de Catalunya.

El coste total calculado es de **8.683 €**.

Para ver con más detalle el presupuesto, ver el documento “Presupuesto” adjuntado en este estudio.

11. Implicaciones ambientales

En este apartado, se analiza las implicaciones ambientales del estudio realizado, teniendo en cuenta las emisiones de gases y los residuos.

11.1. Emisiones de gases

Una de los impactos ambientales importantes a destacar es la emisión de gases. Al emitir gases nocivos, se contamina el aire, alterando su composición (78 % de N, 21 % O, 0,093 % de Ar y una proporción de vapor de agua).

Durante todo el proceso de oxidación con ozono, así como la utilización de N₂, HCl, NaOH y NaBH₄, se han realizado bajo la campana extractora. Este equipo sirve para proteger al personal contra gases tóxicos, vapores y polvo, además de protección contra derrames químicos, reacciones fugitivas e incendios actuando como una barrera física.

11.2. Residuos

Todos los laboratorios que pertenecen a la Universitat Politècnica de Catalunya, siguen los siguientes 5 pasos para gestionar los residuos químicos y sanitarios desde que se generan hasta que son recogidos por un gestor externo para su tratamiento final (UPC - Barcelonatech, n.d.).

- Paso 1: Identificación y clasificación

Todos los residuos tóxicos y peligrosos que son generados en el laboratorio se deben clasificar y determinar la mejor manera de gestionarlos. Los residuos se clasificarán según sus características físico-química para minimizar los riesgos y el impacto sobre el medio ambiente.

- Paso 2: Envasado

Después de la identificación de los residuos, se debe seleccionar un envase adecuado para guardarlos temporalmente. La selección del envase será según la tipología del residuo químico.

- Paso 3: Etiquetaje

Las etiquetas de los envases deben informar del riesgo asociado al mismo, tanto al productor, transportista como al gestor final del mismo. La normativa vigente establece que debe haber diferencia de etiquetaje entre productos químicos y residuos químicos.

- Paso 4: Almacenaje

La UPC puede guardar temporalmente en almacenes y/o armarios de seguridad condicionados para acumular residuos tóxicos y peligrosos. El término legal de almacenaje de residuos químicos es de 6 meses. Anualmente se programan como mínimo dos recogidas a cada centro productor.

- Paso 5: Proceso de recogida

Se entregarán los residuos al gestor autorizado en los términos y condiciones legalmente establecidos. Una vez recogido los residuos, la empresa gestora los transporta a la planta de transferencia para determinar el mejor sistema de

tratamiento de cada tipología de residuos. Esta clasificación responde a garantizar el tratamiento final ambientalmente más correcto y económicamente más óptimo.

Todos los pasos anteriores también se aplican a los residuos sanitarios, estos consisten en equipos de protección individual para proteger de riesgos que puedan amenazar a la seguridad o salud de una persona en el trabajo, así como cualquier tipo de complemento o accesorio destinado a dicha finalidad.

La empresa encargada de realizar las operaciones de recogida de residuos químicos y sanitarios y de transporte hasta el Centro de Recogida y Transferencia (CRT) de la propia empresa, es la empresa ECOCAT.

El resto de residuos de oficina que se generan en el laboratorio, se reciclan según su tipología: envase, papel y cartón y vidrio. Los restos orgánicos deben tirarse fuera del laboratorio.

12. Conclusiones

Durante el estudio se ha conseguido obtener biofilms de nanocelulosa fibrilar con propiedades funcionales avanzadas mediante la oxidación con ozono y se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- Efecto del ozono a la NFC:

Se ha podido verificar que la NFC crea grupos funcionales (carbonilos y carboxilos) a partir de la oxidación con ozono. Mediante los ensayos de carboxilos, aldehídos y viscosidad intrínseca, se ha demostrado que la oxidación de la nanocelulosa con ozono crea más grupos carbonilo, teniendo mayor viscosidad con NaBH_4 , que carboxilos.

El tratamiento con ozono no afecta el rendimiento de la NFC, es decir, no degrada las fibras, manteniendo las longitudes de las fibras intactas.

- Propiedades mejoradas:

Se ha verificado que la oxidación con ozono hay una pequeña mejora en la resistencia a tracción y la absorción en todo el rango visible y UV, dando mayor opacidad, respecto al film sin oxidar.

Las mayores propiedades mejoradas son las propiedades barrera. El film oxidado sometido a una gran humedad (HR% 90), tiene menor permeabilidad al O_2 que el film sin oxidar. También se observa una mayor resistencia al agua, ya que el film oxidado consiguió durar 24 veces más (120 min) que el film sin oxidar (5 min), hasta llegar a desintegrarse en el agua.

- Funcionalización:

Gracias a la oxidación de la nanocelulosa fibrilar, se han obtenido grupos carbonilos necesarios para funcionalizar el film y conseguir obtener nuevos biomateriales. Mediante el ensayo de funcionalización con plata, se ha conseguido obtener un biofilm con mayor conductividad.

Añadiendo diferentes materiales y/o elementos, sería posible obtener diferentes biofilms con propiedades funcionales avanzadas.

13. Recomendaciones

Se recomienda repetir el ensayo de funcionalización con plata con más detalle, midiendo la conductividad en cada lavado y haciendo gráficas para ver la evolución de la conductividad. Además, se recomienda buscar otros métodos para medir la conductividad del film y enganchar otros metales.

También se recomienda repetir los ensayos de Water Drop Test y tracción en húmedo para obtener resultados sobre la hidrofobicidad de los films.

14. Bibliografia

- Ahn, K., Zaccaron, S., Zwirchmayr, N. S., Hettegger, H., Hofinger, A., Bacher, M., ... Rosenau, T. (2019). Yellowing and brightness reversion of celluloses: CO or COOH, who is the culprit? *Cellulose*, 26(1), 429–444.
- Arthur, J. C. (1989). Polymer Reactions. Organochemical Structure. In *Comprehensive Polymer Science and Supplements* (pp. 49–80).
- Brigham, C. (2018). Chapter 3.22.3.2 Cellulose. In *Green Chemistry: An Inclusive Approach* (pp. 753–770).
- Buchert, J., Bergnor, E., Lindblad, G., Viikari, L., Ek, M. (1995). The Role of Xylan and Glucomannan in Yellowing of Kraft Pulp. *The 8th International Symposium on Wood and Pulping Chemistry*. Helsinki, Finland, Vol. III, p. 43-48
- Comprehensive Coordination Chemistry II. (2003). Leaching. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/leaching>
- Dhyani, V., & Bhaskar, T. (2019). Pyrolysis of Biomass. Cellulose. In *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous Biofuels* (pp. 217–244).
- Errokh, A., Magnin, A., Putaux, J. L., & Boufi, S. (2019). Hybrid nanocellulose decorated with silver nanoparticles as reinforcing filler with antibacterial properties. *Materials Science and Engineering C*, 105(July).
- Hernández, J. E., Reyna, L. F., Ortiz, E., & Treviño, M. C. S. R. (n.d.). *SINTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO Y PLATA MEDIANTE IRRADIACIÓN DE MICROONDAS Y ESTUDIO DE SU ESPECTRO VISIBLE*.
- Jaušovec, D., Vogrinčič, R., & Kokol, V. (2015). Introduction of aldehyde vs. carboxylic groups to cellulose nanofibers using laccase/TEMPO mediated oxidation. *Carbohydrate Polymers*, 116, 74–85.
- Junyent Blanco, L. (2017). *ESTUDI DE L'EFFECTE DE DIFERENTS PRE-TRACTAMENTS QUÍMICS, MECÀNICS I BIOTECNOLÒGICS EN L'OXIDACIÓ DE FIBRES CEL·LULÒSIQUES MITJANÇANT OZÓ* Memòria i Annexos. UPC, Escola d'Enginyeria de Barcelona Est.
- Kedia, A., & Dubey, N. K. (2018). Nanoencapsulation of Essential Oils: A Possible Way for an Eco-Friendly Strategy to Control Postharvest Spoilage of Food Commodities From Pests. Cellulose and its derivatives. In *Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms* (Vol. 1, pp. 501–522).
- Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D., & Dorris, A. (2011). Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie - International Edition*, 50(24), 5438–5466.

- Morena, A. G., Roncero, M. B., Valenzuela, S. V., Valls, C., Vidal, T., Pastor, F. I. J., ... Martínez, J. (2019). Laccase/TEMPO-mediated bacterial cellulose functionalization: production of paper-silver nanoparticles composite with antimicrobial activity. *Cellulose*, 26(16), 8655–8668.
- Nelson, K., & Retsina, T. (2014). www.tappi.org. *TAPPI JOURNAL*, 13(5), 64.
- P. F. Gañán-Rojo, C. I. Castro-Herazo, A. Restrepo-Osorio, J. A. Velásquez-Cock, C. E. Correa-Hernández, C. A. Molina-Ramírez, R. Zuluaga-Gallego, L. M. Vélez-Acosta, C. Á.-L. and U. M. M.-R. (2017). Celulosa : un polímero de siempre con mucho futuro. *Revista Colombiana de Materiales*, (11), 1–4.
- Pouyet, F., Chirat, C., Potthast, A., & Lachenal, D. (2014). Formation of carbonyl groups on cellulose during ozone treatment of pulp: Consequences for pulp bleaching. *Carbohydrate Polymers*, 109, 85–91.
- Romera, A. Study of the modification of cellulosic fibres with ozone. Terrassa 2016.
- Roncero Vivero, M. B. (María B. (2001). *Obtención de una secuencia “TCF” con la aplicación de ozono y enzimas para el blanqueo de pastas madereras y de origen agrícola. Optimización de la etapa Z. Análisis de los efectos en las fibras celulósica y sus componentes.*
- Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-a). Densitómetro. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/587/densitometro.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)
- Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-b). Espectrofotómetro abreviado de reflectancia. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/724/espectrofotometro-abreviado-reflectancia.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)
- Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-c). Espectrofotómetro UV. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/291/espectrofotometro-uv.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)
- Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-d). Formador de hojas de ensayo de laboratorio, método Rapid-Köthen. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/596/formador-hojas-ensayo-laboratorio-metodo-rapid-kothern.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)
- Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-e). Máquina universal de ensayos. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/591/maquina-universal-ensayos.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)
- Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-f). Medidor de longitud de fibras. Retrieved December 31, 2019, from

<https://www.upc.edu/sct/es/equip/567/medidor-longitud-fibras.html>
(Consultado Diciembre 31, 2019)

Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-g). Medidor digital de lisura Bekk. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/600/medidor-digital-lisura-bekk.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)

Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-h). Micrómetro digital. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/601/micrometro-digital.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)

Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-i). Microscopio óptico. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/602/microscopio-optico.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)

Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-j). Permeabilímetro Bendtsen para papel. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/608/permeabilimetro-bendtsen-papel.html#> (Consultado Diciembre 31, 2019)

Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-k). Planta de tratamiento con ozono. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/607/planta-tratamiento-ozono.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)

Servicios Científico-técnicos de la UPC. (n.d.-l). Viscosímetro automático. Retrieved December 31, 2019, from <https://www.upc.edu/sct/es/equip/637/viscosimetro-automatico.html> (Consultado Diciembre 31, 2019)

Srivastava, L. M. (2002). Cell Wall, Cell Division, and Cell Growth. Cellulose. In *Plant Growth and Development* (pp. 23–74).

Trache, D., Hussin, M. H., Haafiz, M. K. M., & Thakur, V. K. (2017). Recent progress in cellulose nanocrystals: Sources and production. *Nanoscale*, 9(5), 1763–1786. <https://doi.org/10.1039/c6nr09494e>

UPC - Barcelonatech. (n.d.). Comunitat UPC Sostenible. Residus. Retrieved from <http://sostenible.upc.edu/ca/residus/recollida-selectiva/gestio-de-residus-de-laboratori/com-hem-de-gestionar-els-residus-de-laboratori>. (Consultado Enero 7, 2020)

Valls, C. Aplicació de nous sistemes enzimàtics pel blanqueig de pasta kraft d'eucaliptus. Terrassa, 2008.

Zhang, K., Hujaya, S. D., Järvinen, T., Li, P., Kauhanen, T., Tejesvi, M. V., ... Liimatainen, H. (2019). Interfacial Nanoparticle Complexation of Oppositely Charged Nanocelluloses into Functional Filaments with Conductive, Drug

Release, or Antimicrobial Property. *ACS Applied Materials and Interfaces*.
<https://doi.org/10.1021/acsami.9b15555>

Anexo A: Listado de muestras realizadas durante el estudio

Todas las muestras que se analizaron durante el estudio, se identifican por tu tratamiento de blanqueo, el día en que se hicieron, y el número de réplica de esta. En la siguiente tabla se muestran todas las muestras analizadas con sus características:

Nombre	Tipo	Blanqueado	Nº B*	Descripción
Control 09/9 C1	Film	No	-	0,157g secos + 63 ml H ₂ O
Control 09/9 C2	Film	No	-	0,157g secos + 63 ml H ₂ O
NFC 10/9 B2	Film	Si	2	0,157g secos // C.B.: 0,5 x 2 // + 63 ml H ₂ O
NFC 12/9 B2	Suspensión	Si	2	0,314g secos // C.B.: 0,5 x 2 // + 100 ml H ₂ O
NFC 13/9 B6 M1	Film	Si	6	0,157g secos // C.B.: 0,5 x 6 // + 63 ml H ₂ O
NFC 13/9 B6 M2	Suspensión	Si	6	0,157g secos // C.B.: 0,5 x 6 // + 50 ml H ₂ O
NFC 13/9 B6 M3	Suspensión	Si	6	0,157g secos // C.B.: 0,5 x 6 // + 50 ml H ₂ O
NFC 16/9	Suspensión	No	-	0,314g secos + 100 ml H ₂ O
NFC 2/10 B4 M1	Film	Si	4	0,157g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 63 ml H ₂ O
	Suspensión			0,157g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 50 ml H ₂ O
NFC 2/10 B4 M2	Film	Si	4	0,157g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 63 ml H ₂ O
	Suspensión			0,157g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 50 ml H ₂ O
NFC 2/10 B4 M3	Film	Si	4	0,157g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 63 ml H ₂ O
	Suspensión			0,157g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 50 ml H ₂ O
Control 7/10	Film	No	-	0,157g secos + 63 ml H ₂ O
	Film	No	-	0,157g secos + 63 ml H ₂ O
Control 11/10 C1	Film	No	-	0,157g secos + 63 ml H ₂ O
Control 11/10 C2	Film	No	-	0,157g secos + 63 ml H ₂ O
Control 11/10 C3	Film	No	-	0,157g secos + 63 ml H ₂ O
Control 11/10 C4	Film	No	-	0,157g secos + 63 ml H ₂ O
NFC 2/10 B4 M1	Film	Si	4	0,157g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 63 ml H ₂ O
NFC 22/10 B4 M1	Suspensión	Si	4	0,314g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 65 ml H ₂ O
NFC 22/10 B4 M2	Film	Si	4	0,314g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 65 ml H ₂ O
NFC 22/10 B4 M3	Film	Si	4	0,314g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 65 ml H ₂ O
NFC 22/10 B4 M4	Film	Si	4	0,314g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 65 ml H ₂ O
Control 23/10 C1	Film	No	-	0,314g secos + 65 ml H ₂ O
Control 23/10 C2	Film	No	-	0,314g secos + 65 ml H ₂ O

Control 23/10 C3	Film	No	-	0,314g secos + 65 ml H ₂ O
Control 30/10 1	Film	No	-	0,314g secos + 65 ml H ₂ O
Control 30/10 2	Film	No	-	0,314g secos + 65 ml H ₂ O
NFC 22/10 B4 M1	Film	Si	4	0,314g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 63 ml H ₂ O
NFC 22/10 B4 M3	Film	Si	4	0,314g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 63 ml H ₂ O
NFC 22/10 B4 M4	Film	Si	4	0,314g secos // C.B.: 0,5 x 4 // + 63 ml H ₂ O

Tabla 15. Listado de muestras realizadas durante el estudio

Nº B*: Número de veces blanqueada la muestra

Anexo B: Cálculos de viscosidad intrínseca con NaBH₄

Se utilizaron diferentes relaciones de gramos de NaBH₄ para las muestras en suspensión y para las muestras en film. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

Muestras en suspensión:

Cálculos de los gramos necesarios de NaBH₄ para cada muestra:

$$25 \text{ g totales muestra} \times \frac{0,157 \text{ g secos CNF}}{50 \text{ g totales muestra}} = 0,08 \text{ g secos CNF}$$

Se ha considerado que el peso de la CNF es despreciable en comparación a los 25ml del H₂O.

Se considera que 1 ml H₂O = 1 g H₂O. Por lo tanto:

$$0,08 \text{ g secos CNF} \times \frac{2 \text{ g NaBH}_4}{100 \text{ g secos CNF}} = 0,0016 \text{ g NaBH}_4$$

Se decidió doblar los gramos de NaBH₄, para asegurar que se sobresaturaba la muestra.

Muestra	g NaBH ₄ (Teóricos)	g NaBH ₄ (Reales)
Control 16/9	0,0032	0,0072
NFC 12/9 B2	0,0032	0,0070
NFC 13/9 B6 M2	0,0016	0,0034
NFC 13/9 B6 M3	0,0016	0,0037

Tabla 16. Resultados de gramos de NaBH₄ añadidos a las muestras

Muestras films:

Los cálculos de los gramos necesarios de NaBH₄ para cada muestra dependen de los gramos de NFC secos que se han pesado. También se debe añadir H₂O

en relación al peso total de la muestra. A continuación, se muestra un ejemplo del cálculo:

$$P1 = 0,0388 \text{ g secos NFC} \times \frac{6 \text{ g NaBH}_4}{100 \text{ g secos NFC}} = 0,0023 \text{ g NaBH}_4$$

Como la muestra se encuentra en “seco” (la tenemos en film), se debe añadir agua para poderla mezclar con el NaBH_4 . A continuación se muestran los cálculos necesarios para calcular el H_2O necesaria:

$$P1 = 0,0023 \text{ g NaBH}_4 + 0,0388 \text{ g secos NFC} = 0,0411 \text{ g totales}$$

$$1,75 \text{ g totales disolución} - 0,0411 \text{ g totales} = 1,709 \text{ g H}_2\text{O}$$

Por lo tanto, la muestra tiene la siguiente composición:

$$1,75 \text{ g totales de muestra} = 0,0388 \text{ g secos NFC} + 0,0023 \text{ g NaBH}_4 + 1,709 \text{ g H}_2\text{O}$$

Anexo C: Cálculo de concentraciones de NFC

El cálculo para obtener una concentración de 0,1 g NFC fue diferente para la NFC oxidada y para la NFC sin oxidar.

NFC oxidada:

Dependiendo de los mL totales deseados que se quieran obtener con dicha concentración, los valores de H_2O añadida variarán. A continuación se muestra un ejemplo del cálculo:

$$14 \text{ mL total} \times \frac{0,1 \text{ g NFC}}{100 \text{ mL}} \times \frac{100 \text{ mL}}{0,32 \text{ g NFC}_{\text{oxidada}}} = 4,375 \text{ mL de muestra oxidada}$$

$$14 \text{ mL total} - 4,375 \text{ mL}_{\text{NFC oxidada}} = 9,625 \text{ mL H}_2\text{O añadida}$$

La muestra tiene la siguiente composición:

$$14 \text{ mL total} = 4,375 \text{ mL muestra oxidada} + 9,625 \text{ mL H}_2\text{O añadida}$$

NFC:

Dependiendo de los mL totales deseados que se quieran obtener con dicha concentración, los valores de H_2O añadida variarán. A continuación se muestra un ejemplo del cálculo:

$$14 \text{ mL total} \times \frac{0,1 \text{ g NFC}}{100 \text{ mL}} \times \frac{100 \text{ mL}}{3 \text{ g NFC}} = 0,47 \text{ g NFC}$$

Se considera que 1 g NFC = 1 mL NFC.

$$14 \text{ mL total} - 0,47 \text{ mL NFC} = 13,53 \text{ mL H}_2\text{O} \text{ a} \text{ñadida}$$

La muestra tiene la siguiente composición:

$$14 \text{ mL total} = 0,47 \text{ mL NFC} + 13,53 \text{ mL H}_2\text{O} \text{ a} \text{ñadida}$$

Anexo D: Resultados del tratamiento con ozono

Los resultados de blanqueo con ozono según cada muestra y las gráficas correspondientes, se muestran a continuación. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

NFC 10/9 B2		
N de veces blanqueada	1	2
Masa ozono deseada [mg]	1	1
Masa de ozono acumulada [mg]	23	16
% de blanqueo	96	74
Tiempo [s]	12	26
% Concentración ozono	0,5	0,5
NFC 12/9 B2		
N de veces blanqueada	1	2
Masa ozono deseada [mg]	1	1
Masa de ozono acumulada [mg]	22	15
% de blanqueo	95	68
Tiempo [s]	13	35
% Concentración ozono	0,5	0,5

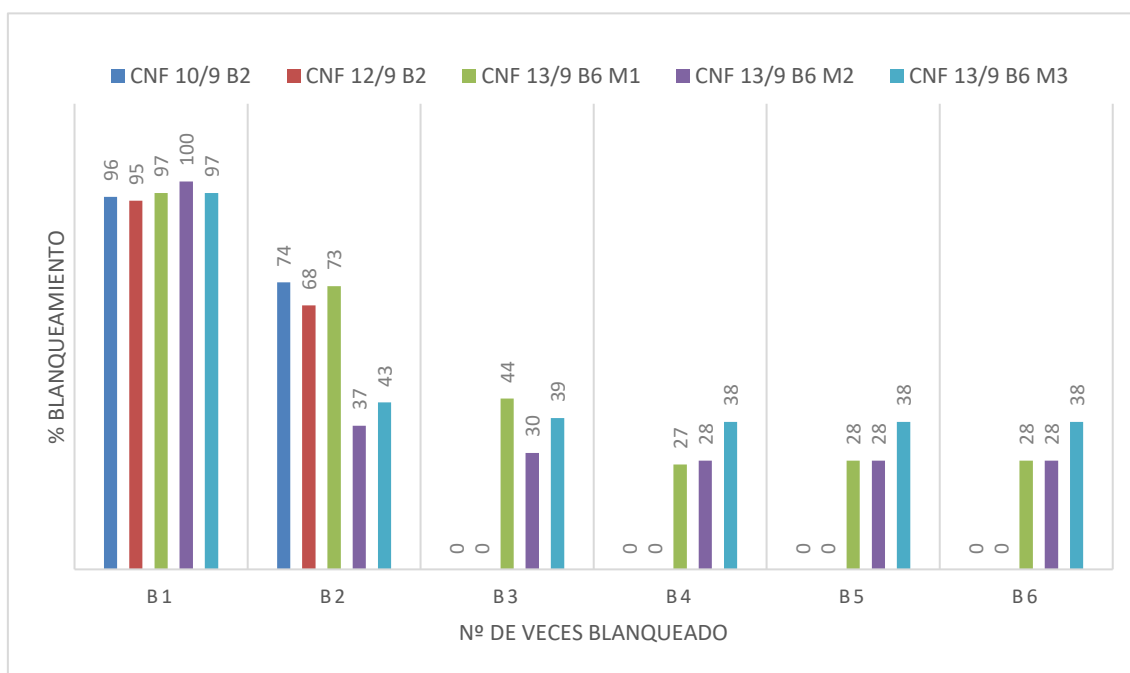
Tabla 17. Resultados de blanqueo de B2

NFC 13/9 B6 M1						
Número de veces blanqueada	1	2	3	4	5	6
Masa ozono deseada [mg]	1	1	1	1	1	1
Masa de ozono acumulada [mg]	23	16	10	6	6	9
% de blanqueo	97	73	44	27	28	28
Tiempo [s]	12	29	32	23	26	143
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

NFC 13/9 B6 M2						
Número de veces blanqueada	1	2	3	4	5	6
Masa ozono deseada [mg]	1	1	1	1	1	1
Masa de ozono acumulada [mg]	22	8	6	6	6	6
% de blanqueo	100	37	30	28	28	28
Tiempo [s]	22	45	25	29	41	18
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
NFC 13/9 B6 M3						
Número de veces blanqueada	1	2	3*	4	5	6
Masa ozono deseada [mg]	1	1	1	1	1	1
Masa de ozono acumulada [mg]	22	9	8	8	8	9
% de blanqueo	97	43	39	38	38	38
Tiempo [s]	18	35	35	51	45	66
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Tabla 18. Resultados de blanqueo de B6

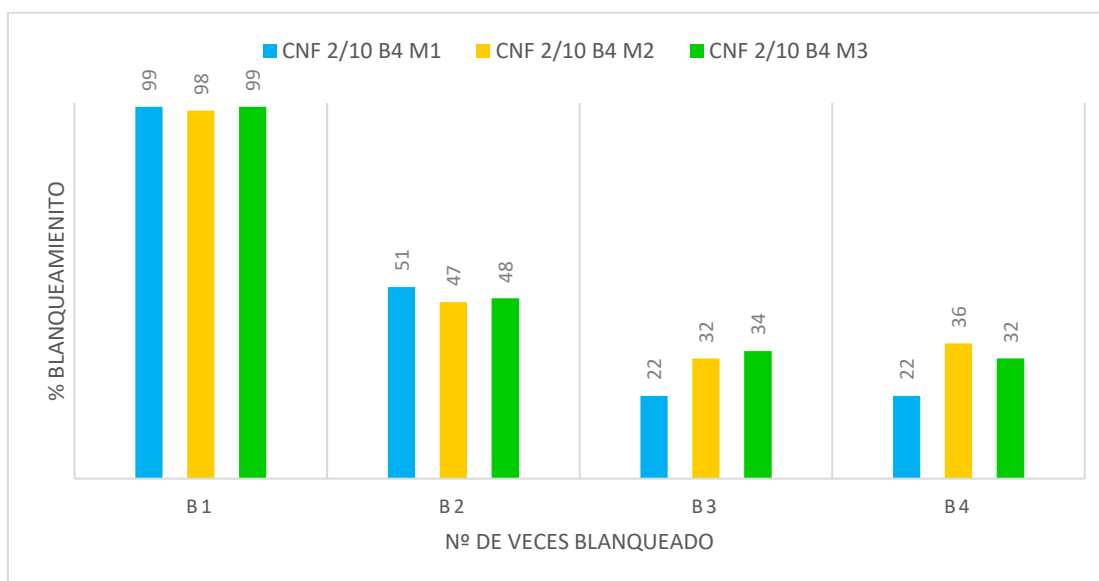
*A partir del blanqueamiento 3, se abre el reactor cada vez que se acaba de blanquear para dejar escapar el O₃ de este.



Gráfica 10. Resultados de la tabla 18 y 19, del blanqueo respecto el n° de veces oxidado

NFC 2/10 B4 M1				
Número de veces blanqueada	1	2	3	4
Masa ozono deseada [mg]	2	2	2	2
Masa de ozono acumulada [mg]	24	12	5	5
% de blanqueo	99	51	22	22
Tiempo [s]	14	25	16	16
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5
NFC 2/10 B4 M2				
Número de veces blanqueada	1	2	3	4
Masa ozono deseada [mg]	2	2	2	2
Masa de ozono acumulada [mg]	23	11	7	8
% de blanqueo	98	47	32	36
Tiempo [s]	17	22	17	19
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5
NFC 2/10 B4 M3				
Número de veces blanqueada	1	2	3	4
Masa ozono deseada [mg]	2	2	2	2
Masa de ozono acumulada [mg]	23	11	8	7
% de blanqueo	99	48	34	32
Tiempo [s]	18	24	19	18
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5

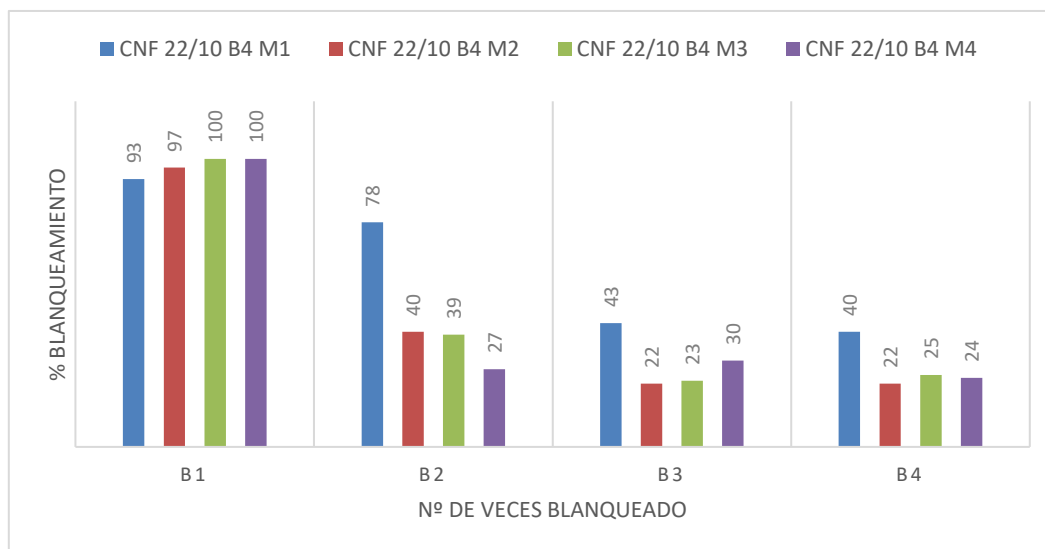
Tabla 19. Resultados de blanqueo de B4 2/10



Gráfica 11. Resultados de blanqueo respecto el nº de veces oxidado de B4 2/10

NFC 22/10 B4 M1				
Número de veces blanqueada	1	2	3	4
Masa ozono deseada [mg]	2	2	2	2
Masa de ozono acumulada [mg]	23	18	10	9
% de blanqueo	93	78	43	40
Tiempo [s]	12	32	20	19
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5
NFC 22/10 B4 M2				
Número de veces blanqueada	1	2	3	4
Masa ozono deseada [mg]	2	2	2	2
Masa de ozono acumulada [mg]	23	9	5	5
% de blanqueo	97	40	22	22
Tiempo [s]	19	23	19	19
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5
NFC 22/10 B4 M3				
Número de veces blanqueada	1	2	3	4
Masa ozono deseada [mg]	2	2	2	2
Masa de ozono acumulada [mg]	23	9	5	6
% de blanqueo	100	39	23	25
Tiempo [s]	21	22	20	21
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5
NFC 22/10 B4 M4				
Número de veces blanqueada	1	2	3	4
Masa ozono deseada [mg]	2	2	2	2
Masa de ozono acumulada [mg]	23	6	7	5
% de blanqueo	100	27	30	24
Tiempo [s]	23	22	19	20
% Concentración ozono	0,5	0,5	0,5	0,5

Tabla 20. Resultados de blanqueo de B4 22/10



Gràfica 12. Resultados de blanqueo respecto el nº de veces oxidado de B4 22/10

Anexo E: Resultados de la viscosidad intrínseca

Los resultados de la viscosidad intrínseca con/sin NaBH₄ según cada muestra, se muestran a continuación. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

Seq. [%]	P hum. [g]	P seco [g]	C [g/cm ³]
0,3200	25	0,0800	0,0016

Tabla 21. Características de la viscosidad intrínseca de la tabla 23

Muestra	Tm (s)	Desv. est.	Vis. esp.	Vis. rel.	V·C	V media [ml/g]
Blanco	40,32	0,0707	-	-	-	-
NFC 16/09	90,83	0,0849	1,4325	2,43	1,050	639
	98,04	0,0566	1,3434	2,34	0,994	
NFC B2 12/09	66,81	0,0000	0,7558	1,76	0,626	409
	76,04	0,0778	0,8361	1,84	0,682	
NFC B6 13/09 M2	66,12	0,0283	0,6170	1,62	0,530	331
NFC B6 13/09 M3	68,01	0,0354	0,6920	1,69	0,578	361
Blanco	37,74	0,0424	-	-	-	-
NFC 16/09 NaBH ₄	84,59	0,0212	1,0857	2,09	0,842	526
Blanco	40,33	0,0000	-	-	-	-
NFC 16/09 NaBH ₄	79,09	0,0495	0,9852	1,99	0,778	486

NFC B2 12/09 NaBH ₄	64,78	0,0778	0,5693	1,57	0,490	311
	63,14	0,0071	0,5927	1,59	0,506	
NFC B6 13/09 M2 NaBH ₄	61,02	0,0636	0,4940	1,49	0,434	271
NFC B6 13/09 M3 NaBH ₄	55,81	0,0283	0,4034	1,40	0,362	226

Tabla 22. Resultados de viscosidad intrínseca de las muestras en suspensión

En los siguientes resultados, se ha considerado la sequedad del film.

Muestra	Abreviatura	Seq [%]	P hum [g]	P seco [g]	C [g/cm ³]
Control 9/09 C1	-	88,76	0,0350	0,0311	0,0006
NFC B2 10/09	-	88,76	0,0350	0,0311	0,0006
NFC B6 13/09 M1	-	88,76	0,0350	0,0311	0,0006
Control 7/10	-	88,76	0,0340	0,0302	0,0006
NFC 2/10 B4 M1 NaBH ₄	P1 NaBH ₄	88,76	0,0388	0,0344	0,0007
NFC 2/10 B4 M1 NaBH ₄	P2 NaBH ₄	88,76	0,0353	0,0313	0,0006
NFC 2/10 B4 M1	P3	88,76	0,0357	0,0317	0,0006
NFC 2/10 B4 M1	P4	88,76	0,0387	0,0344	0,0007

Tabla 23. Características de la viscosidad intrínseca de la tabla 25

Muestra	Tm (s)	Desv. est.	Vis. esp.	Vis. rel.	V-C	V media [ml/g]
Blanco	38,41	0,0424	-	-	-	-
Control 9/09 C1	61,85	0,0071	0,4922	1,49	0,434	697,7
NFC B2 10/09	54,89	0,0141	0,3644	1,36	0,330	530,5
NFC B6 13/09 M1	49,53	0,0000	0,2602	1,26	0,242	389,1
Blanco	38,41	0,0424	-	-	-	-
Control 9/09 NaBH ₄	66,23	0,0849	0,5989	1,60	0,514	826,4
NFC B2 10/09 NaBH ₄	54,89	0,0141	0,3602	1,36	0,330	530,5
NFC B6 13/09 M1 NaBH ₄	54,89	0,0424	0,3577	1,36	0,322	517,7
Blanco	41,20	0,0424	-	-	-	-
Control 7/10	65,46	0,0283	0,6319	1,63	0,538	891
P1 NaBH ₄	53,61	0,0495	0,3340	1,33	0,306	445
P2 NaBH ₄	53,19	0,7142	0,3771	1,38	0,388	540
P3	52,78	0,0707	0,2819	1,28	0,258	407
P4	51,10	0,0283	0,3384	1,34	0,306	445

Tabla 24. Resultados de la viscosidad intrínseca de las muestras en films

Anexo F: Resultados del ensayo de transparencia

Los resultados del ensayo de transparencia de cada muestra se presentan en la siguiente tabla. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

Muestra	% T ₆₀₀	Transparencia
Control 9/09 C1	1,65	9,47
NFC B2 10/9	2,26	17,79
NFC B6 13/9 M1	1,55	9,76
Control 7/10 0,1%	1,67	10,56
NFC B4 2/10 M1 0,1%	1,36	6,51
NFC B4 2/10 M2 0,1%	1,71	11,48
NFC B4 2/10 M3 0,1%	1,13	2,59
Control 9/09	1,65	9,47
NFC B4 2/10 M2	1,72	11,60
NFC B4 2/10 M3	1,58	9,69

Tabla 25. Resultados del ensayo de transparencia

Anexo G: Resultados del microscopio

En el microscopio se analizaron una muestra B4 y un control. A continuación, se muestran diferentes imágenes que se hicieron de dichas muestras.



Figura 46. Imágenes captadas con el microscopio de B4 (escala 100 μM)

Se observan fibras de diferentes longitudes (c). Se aprecian las roturas de las fibras (b). Se identifican fibras coníferas, como el pino (b) y fibras frondosas (a).

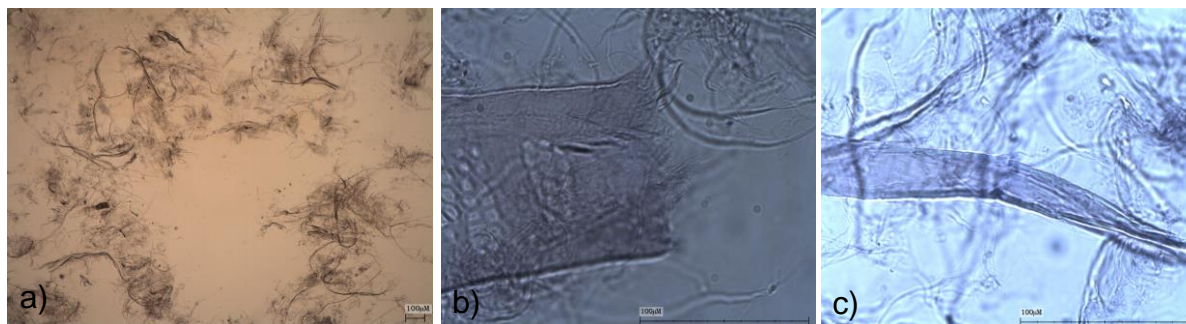


Figura 47. Imágenes captadas con el microscopio de control (escala 100 μ M)
Se observan fibras de longitudes diferentes (a). Se aprecian las roturas de las fibras (b). Se identifican fibras de eucalipto (b) y fibras coníferas (c).

Las fibras han sido identificadas por la Doctorada Cristina Valls.

Anexo H: Resultados de espesor y gramaje

Las medidas de espesor y el peso, área y gramaje de cada film se muestran en la tabla 27 y 28. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

	Medida espesor [μ m]									
Muestra	e1	e2	e3	e4	e5	e6	e7	e8	e9	e10
Control 09/9 C1	22	23	22	24	24	23	21	22	22	27
Control 09/9 C2	20	21	18	20	21	20	22	22	19	16
NFC B2 10/9	19	21	24	18	20	24	19	18	17	19
NFC B6 13/9 M1	21	20	19	20	19	21	18	18	19	20
Control 7/10	21	21	21	22	19	20	22	19	20	27
NFC B4 2/10 M1	21	21	20	23	20	20	24	20	18	18
NFC B4 2/10 M2	25	20	18	20	23	19	18	20	20	20
NFC B4 2/10 M3	20	19	22	22	24	19	19	19	22	19
Control 23/10 C1	42	41	37	33	37	34	39	34	33	38
Control 23/10 C2	39	37	35	38	38	33	38	37	38	42
Control 23/10 C3	39	38	37	34	37	32	34	34	36	36
NFC B4 22/10 M2	38	37	34	38	39	36	39	38	35	38
NFC B4 22/10 M3	37	37	37	35	37	38	37	37	32	38
NFC B4 22/10 M4	39	34	34	39	38	39	37	43	34	40

Tabla 26. Medidas del espesor de los films

Muestra	Media espesor [μm]	Des. espesor	Peso [g]	Àrea [m ²]	Gramaje [g/m ²]
Control 09/9 C1	23,0	1,7	0,157	$9,60 \cdot 10^{-3}$	16,4
Control 09/9 C2	19,9	1,9	0,149	$9,50 \cdot 10^{-3}$	15,7
NFC B2 10/9	19,9	2,4	0,117	$9,00 \cdot 10^{-3}$	13,0
NFC B6 13/9 M1	19,5	1,1	0,128	$9,20 \cdot 10^{-3}$	13,9
Control 7/10	21,1	2,3	0,142	$9,20 \cdot 10^{-3}$	15,4
NFC B4 2/10 M1	20,5	1,9	0,143	$9,20 \cdot 10^{-3}$	15,5
NFC B4 2/10 M2	20,3	2,2	0,134	$9,20 \cdot 10^{-3}$	14,6
NFC B4 2/10 M3	20,5	1,8	0,155	$9,10 \cdot 10^{-3}$	16,8
Control 23/10 C1	36,8	3,3	0,326	$9,41 \cdot 10^{-3}$	34,6
Control 23/10 C2	37,5	2,4	0,328	$9,12 \cdot 10^{-3}$	36,0
Control 23/10 C3	35,7	2,2	0,331	$9,22 \cdot 10^{-3}$	35,9
NFC B4 22/10 M2	37,2	1,7	0,313	$9,02 \cdot 10^{-3}$	34,7
NFC B4 22/10 M3	36,5	1,8	0,332	$9,02 \cdot 10^{-3}$	36,8
NFC B4 22/10 M4	37,7	3,0	0,312	$9,12 \cdot 10^{-3}$	34,2

Tabla 27. Resultados de espesor, peso, área y gramaje de los films

Anexo I: Resultados del ensayo de aldehídos

Los resultados del ensayo de aldehídos se muestran en la tabla 29. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

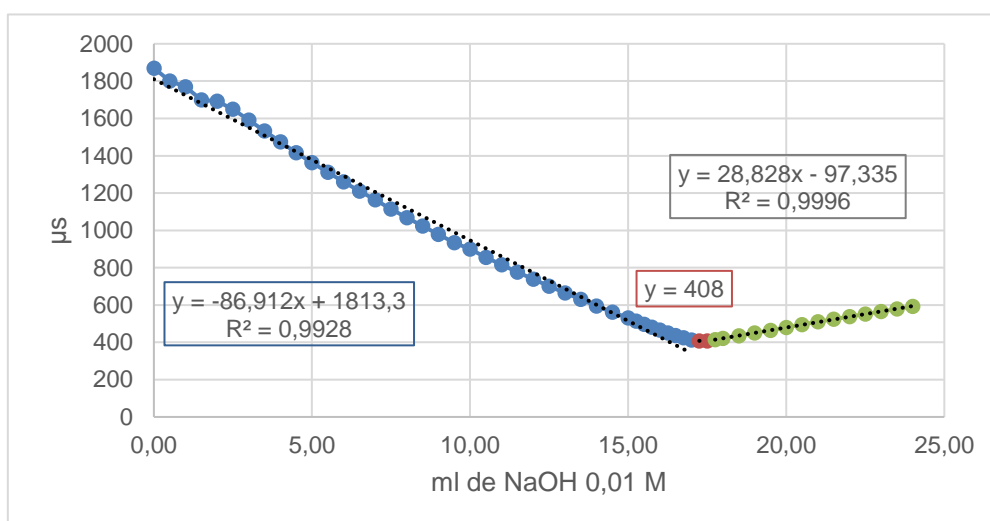
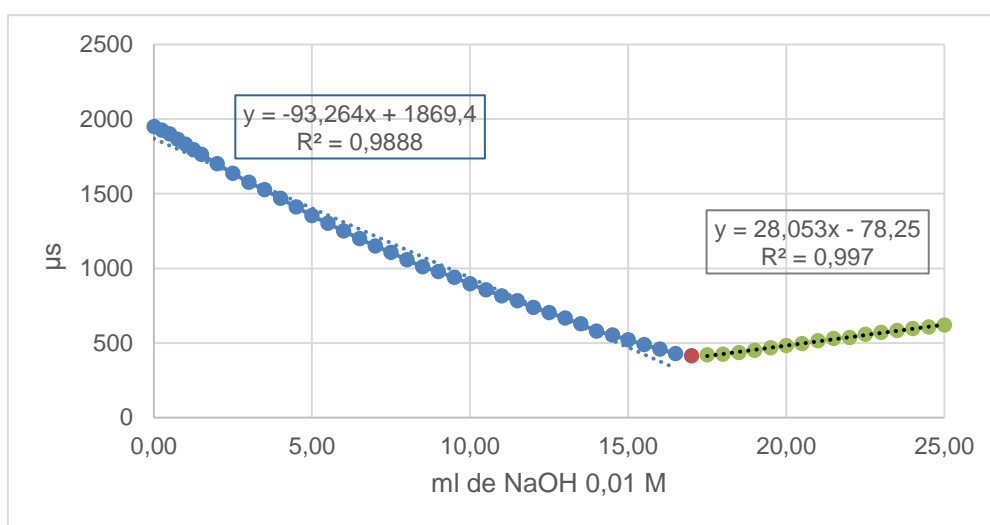
Control 11/10		
mg muestra NFC húmedo	mg muestra NFC seco	ml de HCl añadidos
5,0	4,44	5,48
5,0	4,44	6,30
5,1	4,53	6,08
5,1	4,53	6,00
4,9	4,35	6,20
CNF 2/10 B4 M1		
mg muestra NFC húmedo	mg muestra NFC seco	ml de HCl añadidos
4,7	4,17	4,96
5,2	4,62	5,40

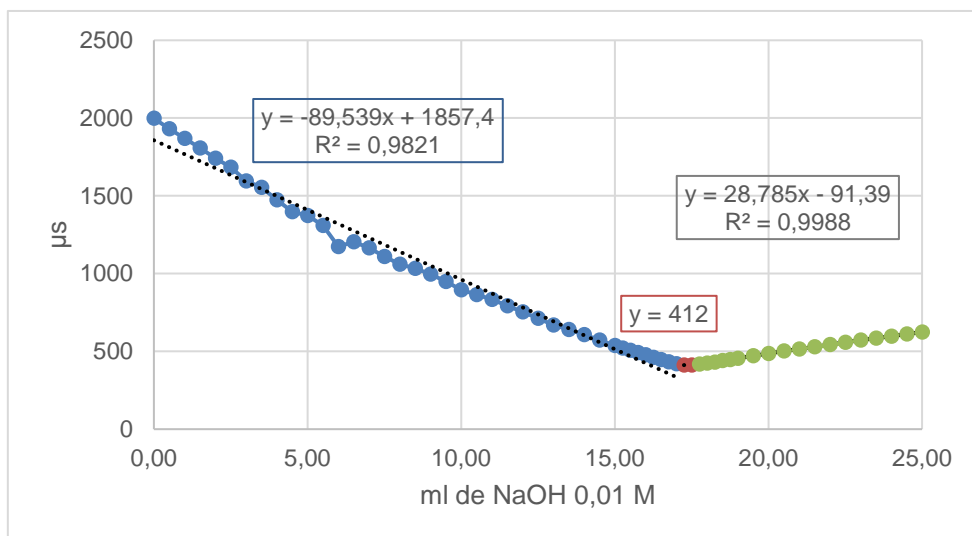
5,0	4,44	5,04
5,0	4,44	5,12
5,2	4,62	5,02

Tabla 28. Resultados del ensayo de aldehídos de control y B4

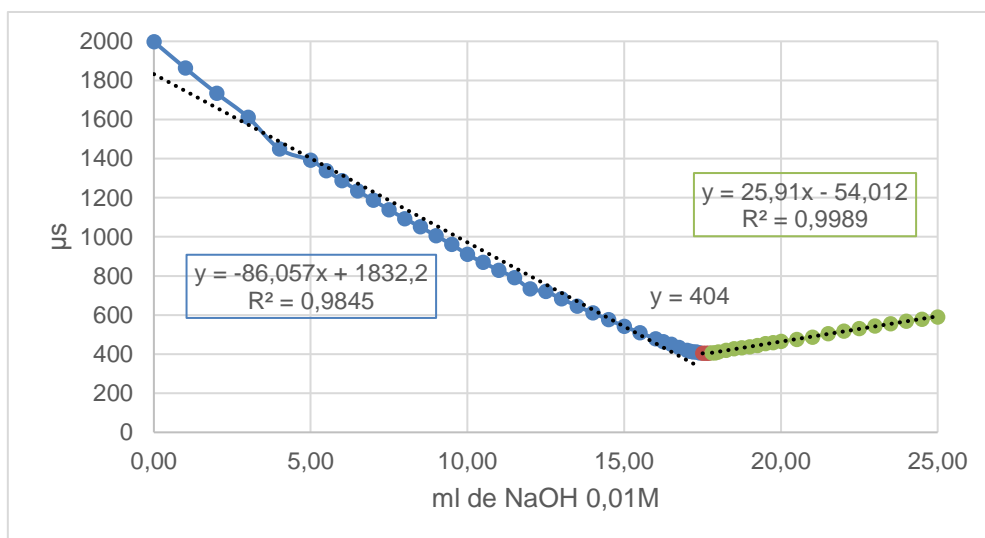
Anexo J: Resultados del ensayo de carboxilos

El volumen inicial y final de cada muestra, se ha calculado mediante las gráficas obtenidas con los valores del ensayo de carboxilos. A continuación se muestran las gráficas obtenidas. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

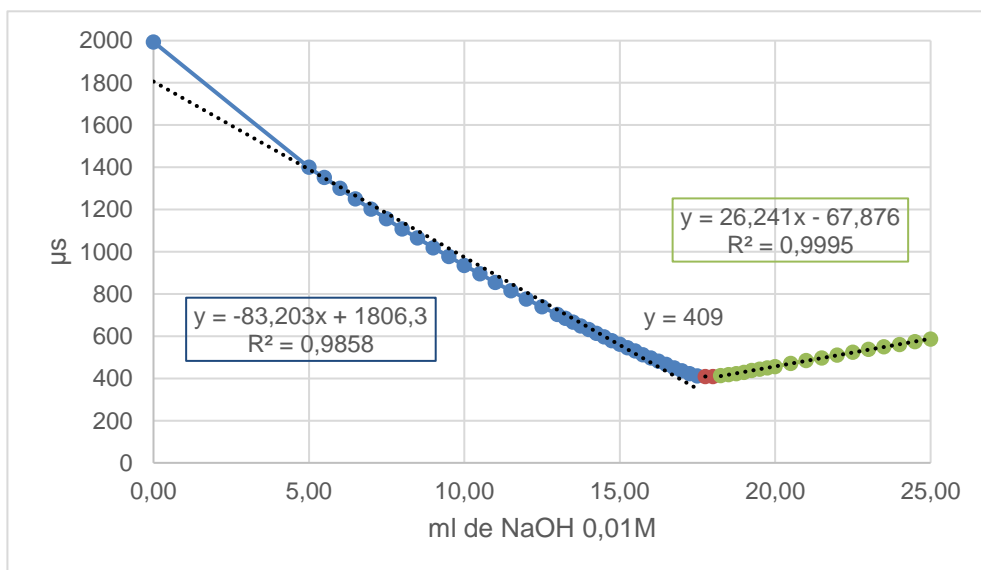




Gràfica 17. Conductivitat del control 11/10 (réplica 3)



Gràfica 16. Conductivitat del B4 2/10 (réplica 1)



Gràfica 15. Conductivitat del B4 2/10 (réplica 3)

Los resultados finales con los volúmenes se muestran en la siguiente tabla:

Muestra	V ₁	V ₂	V _f	COOH [mmol/g ps]	COOH [μmol/ g ps]
Control 11/10 (1)	15,61	17,55	1,94	0,388	388
Control 11/10 (2)	16,17	17,53	1,36	0,272	272
Control 11/10 (3)	16,14	17,49	1,35	0,270	270
NFC 2/10 B4 M1 (1)	16,794	18,173	1,379	0,242	242
NFC 2/10 B4 M1 (2)	16,596	17,677	1,081	0,192	192
NFC 2/10 B4 M1 (3)	16,545	18,066	1,521	0,267	267

Tabla 29. Resultados del ensayo de carboxilos

Anexo K: Resultados del ensayo de la permeabilidad al aire

Las medidas de permeabilidad al aire de cada film según el equipo BENDTSEN y BEKK, se muestran en las siguientes tablas. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

Control 9/09 C1					
P ₁ = 65	P ₂ = 80	P ₃ = 60	P ₄ = 60	P ₅ = 75	P ₆ = 90
P ₇ = 65	P ₈ = 75	P ₉ = 70	P ₁₀ = 75	P ₁₁ = 75	P ₁₂ = 70
P ₁₃ = 90	P ₁₄ = 80	P ₁₅ = 75	P ₁₆ = 90	P ₁₇ = 60	P ₁₈ = 60
P ₁₉ = 65	P ₂₀ = 70	P ₂₁ = 90	P ₂₂ = 60	P ₂₃ = 75	P ₂₄ = 60
NFC B2 10/9					
P ₁ = 70	P ₂ = 80	P ₃ = 75	P ₄ = 75	P ₅ = 65	P ₆ = 75
P ₇ = 60	P ₈ = 65	P ₉ = 80	P ₁₀ = 70	P ₁₁ = 70	P ₁₂ = 85
P ₁₃ = 75	P ₁₄ = 90	P ₁₅ = 90	P ₁₆ = 85	P ₁₇ = 75	P ₁₈ = 70
P ₁₉ = 85	P ₂₀ = 80	P ₂₁ = 75	P ₂₂ = 70	P ₂₃ = 85	P ₂₄ = 80
NFC B6 13/9 M1					
P ₁ = 70	P ₂ = 70	P ₃ = 75	P ₄ = 70	P ₅ = 70	P ₆ = 65
P ₇ = 85	P ₈ = 85	P ₉ = 65	P ₁₀ = 65	P ₁₁ = 65	P ₁₂ = 80
P ₁₃ = 90	P ₁₄ = 80	P ₁₅ = 70	P ₁₆ = 65	P ₁₇ = 65	P ₁₈ = 75
P ₁₉ = 70	P ₂₀ = 70	P ₂₁ = 70	P ₂₂ = 60	P ₂₃ = 80	P ₂₄ = 65

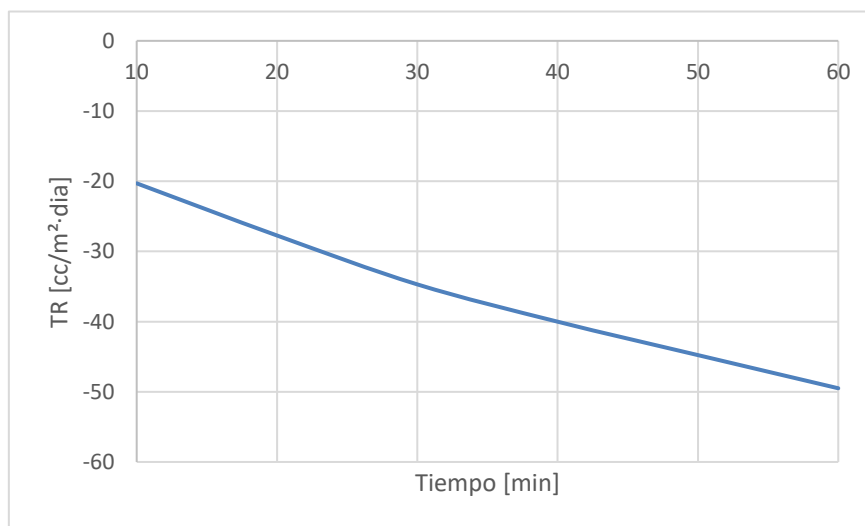
Tabla 30. Resultados de permeabilidad al aire con equipo BENTSEN

Muestra	Número de veces medido									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control 7/10	479,7	601,6	559,7	627,8	566,2	555,7	-	-	-	-
NFC B4 2/10 M1	604,2	620,0	-	-	-	-	-	-	-	-
NFC B4 2/10 M2	511,2	665,8	-	-	-	-	-	-	-	-
NFC B4 2/10 M3	659,2	781,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Control 23/10 C1	321,1	276,6	237,2	329,0	395,8	398,4	390,6	376,2	336,8	372,2
Control 23/10 C2	281,8	319,8	319,8	260,8	347,3	300,1	314,6	313,3	283,1	339,5
Control 23/10 C3	330,3	301,5	356,5	343,4	321,1	313,3	308,0	296,2	339,5	297,5
NFC B4 22/10 M2	296,2	291,0	319,8	380,1	367,0	359,1	365,7	263,4	296,2	332,9
NFC B4 22/10 M3	224,1	308,0	380,1	334,2	462,7	432,5	297,5	288,3	306,7	372,2
NFC B4 22/10 M4	277,9	247,7	370,9	246,4	304,1	251,7	313,3	342,1	243,8	249,0

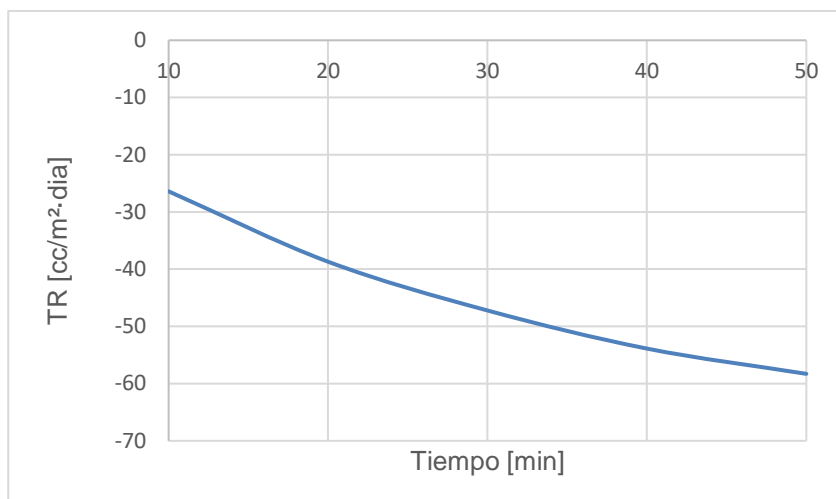
Tabla 31. Resultados de permeabilidad al aire con equipo BEKK

Anexo L: Resultados del ensayo de la permeabilidad al O₂

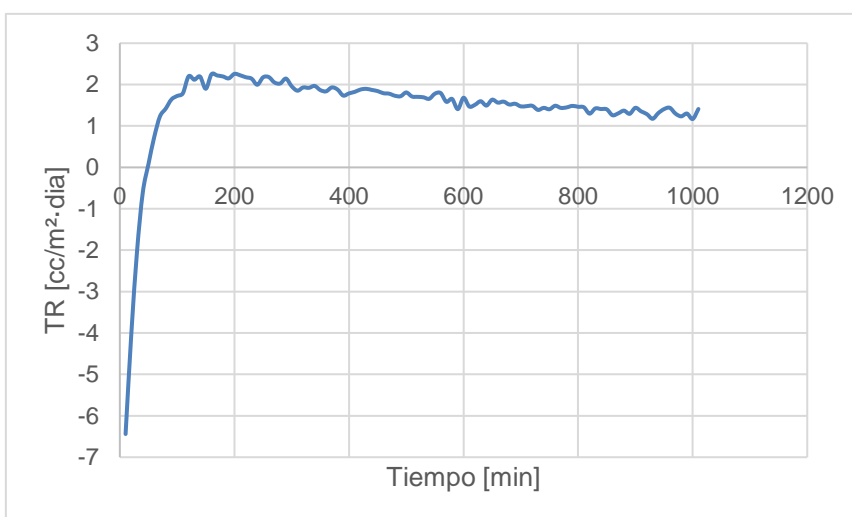
A partir de las medidas cogidas por el equipo WVTR, se han obtenido las siguientes gráficas. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.



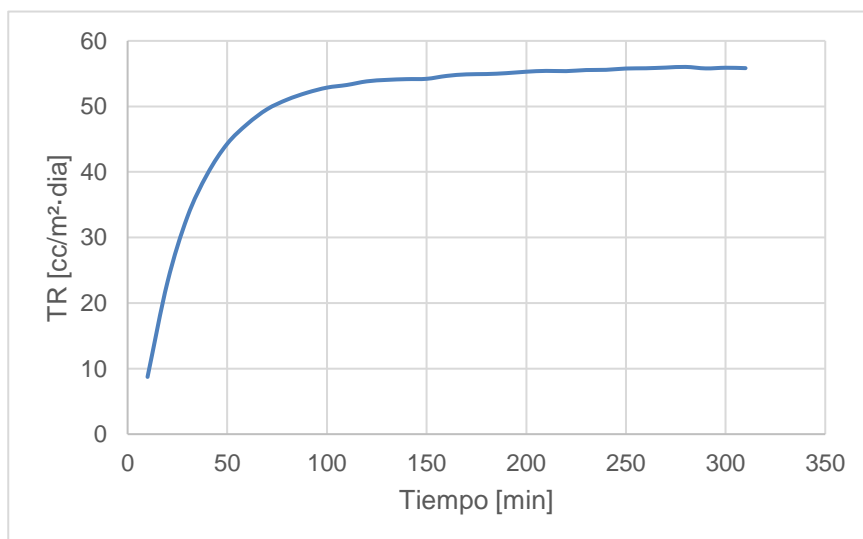
Gráfica 18. Resultado de permeabilidad al O₂ de B4 22/10 con HR% 0



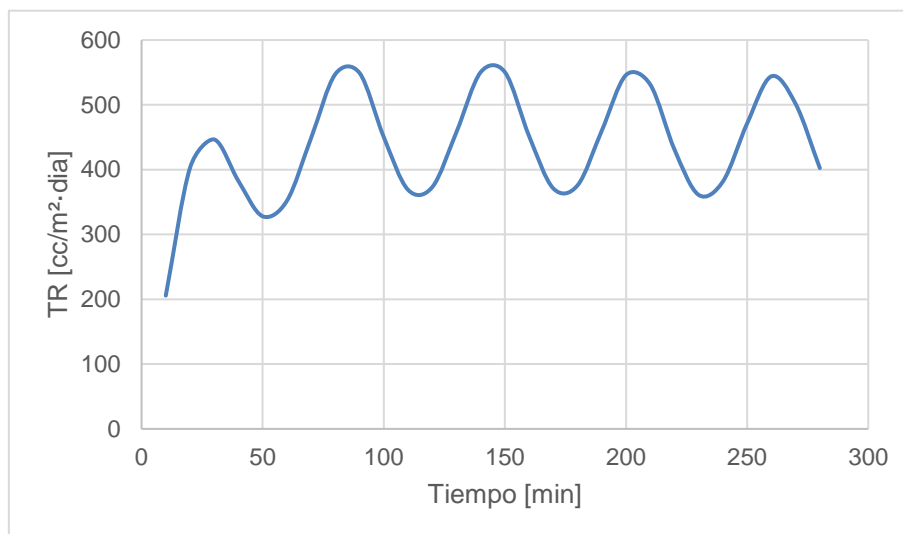
Gràfica 20. Resultado de permeabilidad al O₂ de B4 22/10 con HR% 40



Gràfica 19. Resultado de permeabilidad al O₂ de B4 22/10 con HR% 70



Gràfica 21. Resultado de permeabilidad al O₂ de B4 22/10 con HR% 80



Gràfica 22. Resultado de permeabilidad al O₂ de B4 22/10 con HR% 90

Anexo M: Resultados del ensayo Water Drop Test

Los resultados del ensayo WTD se muestran en la siguiente tabla. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

	Control HR% 65			CNF B2 HR%65		CNF B6 HR%65
Tiempo	38 min	46 min	28 min	28 min	25 min	1 h 7 min
	NFC 2/10 B4			Control 11/10		
Tiempo	18 min	25 min	26 min	20 min		

Tabla 32. Resultados del ensayo de Water Drop test

Anexo N: Resultados del ensayo de blancura

A continuación, se muestran los resultados del ensayo de blancura de todas las muestras según el fondo aplicado. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

Muestra	Blanco [%]	Amarillo [%]	Azul [%]	Verde [%]	Rojo [%]	Negro [%]
COLORES	79,85	63,40	15,69	31,54	6,75	-
Control 9/09 C1	76,80	38,60	64,60	29,50	21,50	19,90
Control 9/09 C2	76,60	39,50	64,90	27,80	23,50	18,00
NFC B2 10/09	77,30	40,30	65,40	29,50	23,70	19,70
NFC B6 13/09 M1	76,00	40,30	64,60	31,40	26,00	22,50
NFC B4 2/10 M1	77,00	38,40	64,20	27,30	21,20	17,40

NFC B4 2/10 M2	77,10	38,80	64,30	27,50	21,30	17,60
NFC B4 2/10 M3	77,10	38,40	64,50	27,30	21,40	17,40
Control 23/10 C1	76,29	42,42	64,73	32,34	26,78	24,43
Control 23/10 C2	75,69	39,20	63,44	29,14	23,23	19,72
Control 23/10 C3	75,68	40,51	63,75	30,70	25,09	21,74
NFC B4 22/10 M2	76,19	38,55	63,50	27,87	21,90	17,78
NFC B4 22/10 M3	76,68	40,10	64,38	29,45	24,26	21,17
NFC B4 22/10 M4	76,48	39,20	63,93	28,52	22,62	18,74
Control 23/10 3 AgNO ₃ 0,1 mM	75,06	47,67	65,47	40,38	36,34	33,81
NFC B4 22/10 M3 AgNO ₃ 0,1 mM	69,82	39,97	59,88	33,39	28,38	25,72
Control 23/10 2 AgNO ₃ 10 mM	18,48	-	-	-	-	-
NFC B4 22/10 M3 AgNO ₃ 10 mM	12,85	-	-	-	-	-
Control 30/10	76,27	42,97	64,92	33,47	28,04	24,66
NFC B4 22/10 M1	77,21	41,74	65,05	32,00	26,08	22,86
Control 30/10 HR% 65	72,86	-	-	-	-	-
NFC B4 22/10 M1 HR%65	62,11	-	-	-	-	-

Tabla 33. Resultados del ensayo de blancura de los films según el fondo aplicado

Anexo O: Resultados del ensayo de densidad óptica

Los resultados del ensayo de densidad óptica se muestran en la siguiente tabla. Para ver la identificación de las muestras, ver Anexo A.

Muestra	Yellow	Cian	Magenta	V
Fondo BLANCO				
Blanco	1,55	1,10	1,09	1,10
CONTROL 23/10 3 AgNO ₃ 0,1 mM	1,62	1,17	1,16	1,17
NFC B4 22/10 M3 AgNO ₃ 0,1 mM	1,45	1,20	1,21	1,21
Fondo VERDE				
Verde	2,53	1,84	1,38	1,45
CONTROL 23/10 3 AgNO ₃ 0,1 mM	1,97	1,51	1,33	1,37
NFC B4 22/10 M3 AgNO ₃ 0,1 mM	2,02	1,54	1,36	1,40
Fondo AMARILLO				
Amarillo	2,09	1,09	1,10	1,10
CONTROL 23/10 3 AgNO ₃ 0,1 mM	1,89	1,14	1,16	1,16
NFC B4 22/10 M3 AgNO ₃ 0,1 mM	1,99	1,18	1,22	1,21

Fondo ROJO				
Rojo	2,91	1,16	2,42	1,77
CONTROL 23/10 3 AgNO ₃ 0,1 mM	2,00	1,23	1,55	1,46
NFC B4 22/10 M3 AgNO ₃ 0,1 mM	2,13	1,26	1,68	1,55
Fondo AZUL				
Azul	1,71	2,06	1,39	1,49
CONTROL 23/10 3 AgNO ₃ 0,1 mM	1,70	1,52	1,31	1,35
NFC B4 22/10 M3 AgNO ₃ 0,1 mM	1,76	1,63	1,38	1,43

Tabla 34. Resultados del ensayo de densidad óptica de los films